

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias para ser empleadas en complementos alimenticios-4

Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición

Elena Alonso Lebrero, José Manuel Barat Baviera, María Pilar Conchello Moreno, Ramón Estruch Riba, María Antonia Ferrús Pérez, Guillermina Font Pérez, Susana Guix Arnau, Arturo Hardisson de la Torre, Ángeles Jos Gallego, Ascensión Marcos Sánchez, Amelia Marti del Moral, Olga Martín Belloso, María Aránzazu Martínez Caballero, Alfredo Palop Gómez, Gaspar Pérez Martínez, José Luis Ríos Cañavate, Gaspar Ros Berrueto, Jesús Ángel Santos Buelga, Jesús Simal Gándara, Josep Antoni Tur Marí

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AECOSAN-2015-008

Documento aprobado por la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico en su sesión plenaria de 18 de noviembre de 2015

Grupo de trabajo

Guillermina Font Pérez (Coordinadora)
José Manuel Barat Baviera (Coordinador de carbón activo)
Arturo Hardisson de la Torre (Coordinador de aminoácidos)
Amelia Marti del Moral (Coordinadora de ácido lipoico)
Gaspar Pérez Martínez (Coordinador de lactulosa)
José Luis Ríos Cañavate (Coordinador de monacolina)
Jesús Simal Gándara (Coordinador de hidroximetilbutirato)
Ramón Estruch Riba, Ángeles Jos Gallego,
Arantxa Martínez Caballero, Gaspar Ros Berrueto

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 dosificada, se entregan al consumidor final únicamente preenvasados. 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 sustancias propuestas por la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) son: ácido L-aspartico, L-citrulina, glicina, L-prolina, L-serina, L-arginina-L-aspartato, L-lisina-L-aspartato, L-lisina-L-glutamato, N-acetil-L-cisteína, N-acetil-L-metionina, hidroximetilbutirato, ácido lipoico, *Monascus purpureus*, carbón activo y lactulosa.

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 AECOSAN 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

biológica de las sustancias y dosis valoradas. El Comité Científico indica que, en todo caso es necesario que las personas que estén sometidas a tratamientos con medicamentos consulten con su médico la oportunidad o conveniencia de consumir complementos alimenticios dada la posibilidad de que existan interferencias en algunos casos.

Palabras clave

Complementos alimenticios, Ácido L-aspartico, L-citrulina, Glicina, L-prolina, L-serina, L-arginina-L-aspartato, L-lisina-L-aspartato, L-lisina-L-glutamato, N-acetil-L-cisteína, N-acetil-L-metionina, Hidroximetilbutirato, Ácido lipoico, *Monascus purpureus*, Carbón activo, Lactulosa.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) on the conditions of use of certain substances to be used in food supplements-4

Abstract

Food supplements are foods, the purpose of which is to supplement the normal diet and which consist of concentrated nutrient sources (vitamins and minerals) or other substances with a nutritional or physiological effect, alone or in combination. The supplements are marketed in dosage form and are only supplied to the end consumer prepacked. In no event should they replace the use of medicines 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 substances proposed by the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) are food supplements, L-aspartic acid, L-citrulline, glycine, L-proline, L-serine, L-arginine-L-aspartate, L-lysine L-aspartate, L-lysine-L-glutamate, N-acetyl-L-cysteine, N-acetyl-L-methionine, hydroxymethylbutyrate, lipoic acid, *Monascus purpureus*, activated carbon and lactulose.

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 AECOSAN is acceptable from a safety viewpoint for use as a food supplement. In no event is the assessment intended as a guarantee of the biological efficiency of the substances and doses assessed. The Scientific Committee states that, in any case individuals undergoing medical treatment must seek medical advice as to the suitability of taking food supplements, given the possibility of interactions in certain cases.

Key words

Food supplements, L-aspartic acid, L-citrulline, glycine, L-proline, L-serine, L-arginine L-aspartate, L-lysine-L-aspartate, L-lysine-L-glutamate, N-acetyl-L-cysteine, N-acetyl-L-methionine, hidroxy-methylbutyrate, lipoic acid, *Monascus purpureus*, activated carbon, lactulose.

1. Introducción

La Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) ha elaborado una nueva 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 para su inclusión en un nuevo anexo III del Real Decreto 1487/2009 (BOE, 2009). En este sentido, el Consejo de Dirección de la AECOSAN ha solicitado a la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico que realice, tal como ha hecho en ocasiones anteriores, una valoración de diversas propuestas de autorización de la utilización de determinadas sustancias en la fabricación de complementos alimenticios.

De acuerdo con lo ya indicado en informes anteriores, 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 traspu-so 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 de 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 de 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.

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.

El Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios sólo contempla actualmente a las vitaminas y minerales entre las sustancias autorizadas para la fabricación de los complementos alimenticios en España. 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, aunque no su comercialización a través de la

autorización obtenida en otro Estado miembro y el correspondiente reconocimiento mutuo. Por ello, la AECOSAN ha hecho distintas peticiones de evaluación de determinadas sustancias distintas de vitaminas y minerales para ser utilizadas en la fabricación de complementos alimenticios y sus correspondientes cantidades máximas diarias para su inclusión en un nuevo anexo III del Real Decreto 1487/2009.

Como continuación de los trabajos de actualización del Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios, la AECOSAN solicita a su Comité Científico que realice una valoración respecto a la adecuación de la utilización de distintas sustancias como complementos alimenticios con el fin de incluirlas en el anexo III de dicho Real Decreto.

2. Propuesta

La AECOSAN 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 AECOSAN para su utilización en la fabricación de complementos alimenticios	
Sustancia propuesta	Cantidad máxima diaria propuesta
Ácido L-aspártico	-
L-citrulina	-
Glicina	-
L-prolina	-
L-serina	-
L-arginina-L-aspartato	-
L-lisina-L-aspartato	-
L-lisina-L-glutamato	-
N-acetil-L-cisteína	300 mg
N-acetil-L-metionina	-
Hidroximetilbutirato	3 g
Ácido lipoico	-
<i>Monascus purpureus</i>	10 mg (Monacolina k)
Carbón activo	2 g
Lactulosa	10 g

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) Nº 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. Las personas que sigan tratamientos con medicamentos que contengan sustancias presentes en complementos alimenticios deben consultar a su médico para evitar una sobredosificación.

Hay que tener en cuenta que el consumo de complementos que contengan sustancias que se encuentren de forma natural en los alimentos puede implicar una ingesta total superior a la cantidad máxima establecida para dichas sustancias en su uso como complemento alimenticio. Los complementos alimenticios 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.

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 N° 131 de 30 de mayo de 2008, pp: 25121-25137.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE N° 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85370-85378.
- 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. Aminoácidos

4.1 Propuesta

La AECOSAN ha propuesto la inclusión de distintos aminoácidos en el Real Decreto 1487/2009 sin especificar una cantidad máxima diaria, salvo en el caso de la N-acetil-L-cisteína. La solicitud se basa en que están admitidos en la elaboración de alimentos destinados a usos médicos especiales, tal como se recoge en el anexo del Reglamento (CE) N° 953/2009.

4.2 Ácido L-aspártico

El ácido L-aspártico es un aminoácido no esencial, lo que indica que puede ser sintetizado en el organismo. El organismo es capaz de sintetizar el 80 % del total de los aminoácidos y el 20 % restante se debe obtener de la dieta.

El ácido L-aspártico está presente en alimentos de consumo frecuente de origen animal y vegetal, y es un metabolito del edulcorante aspartamo.

4.2.1 Características y fuentes

El ácido L-aspártico, tiene un peso molecular de 133,1 g/mol. Su fórmula estructural es la siguiente (Figura 1):

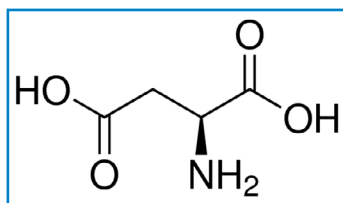


Figura 1. Fórmula estructural del ácido L-aspártico.

La concentración en el plasma sanguíneo oscila entre 0,01 y 0,3 mg/100 y en la orina (mg/24 horas) es de 165 mg, estando 2 mg en forma libre y 163 mg como conjugado (Hernández y Sastre, 1999). El ácido aspártico se encuentra en los cereales y legumbres (garbanzos, lentejas y soja), tubérculos como la patata, frutos secos como los cacahuetes y productos marinos como el salmón y las gambas.

El aditivo aspartamo, usado como edulcorante, es una fuente exógena de ácido L-aspártico, pues se metaboliza en aspártico, fenilalanina y cantidades de metanol (Gil, 2005).

4.2.2 Nutrición y metabolismo

El ácido L-aspártico, está relacionado reversiblemente con el oxalacetato mediante la enzima aspartatoaminotransferasa. Este aminoácido interviene en la síntesis de bases púricas y pirimidínicas y en la ureogénesis (Gil, 2005).

Sufre, como todos los aminoácidos, dos reacciones de biotransformación. Una reacción de transaminación, catalizada por transaminasas, por la que un aminoácido se convierte en otro. Este tipo de reacciones, se lleva a cabo en el citosol de la célula y en las mitocondrias. Las transaminasas son fundamentalmente la alanina-aminotransferasa y la aspartato-aminotransferasa, ambas requieren como cofactor el piridoxalfosfato, que es un derivado de la vitamina B₆ o piridoxina.

La segunda reacción es la desaminación oxidativa, que se lleva a cabo en las mitocondrias. En ellas, la enzima ácido glutámico-deshidrogenasa elimina el grupo amino del ácido glutámico. De esta manera, se forma urea y las cadenas carbonadas son productos de la glucólisis y del ciclo de Krebs. Así, el producto de desaminación del aspártico es el fumarato.

El ácido aspártico también interviene en el metabolismo del ADN y tiene funciones de neurotransmisor (Gil, 2005).

4.2.3 Seguridad

El exceso de ácido L-aspártico puede producir neurotoxicidad en animales y concretamente lesiones hipotalámicas en ratas (Schnainker y Olney, 1974). En humanos, según el *Food and Nutrition Board* (FNB/IOM, 2002), no se han comunicado efectos adversos al administrar suplementos de 8 g al día además del aspártico de la dieta.

Tada et al. (2008), llevaron a cabo un estudio de toxicidad subcrónica en ratas, donde los autores fijan un NOAEL (*No observed adverse effect level*) para ratas hembras de 715,2 mg/kg/día y de 696,6

mg/kg/día para ratas macho. Si se considera el NOAEL más bajo de 696,6 mg/kg/día (700 mg/kg/día) y se emplea como factor de incertidumbre 100, la IDA (ingesta diaria admisible) será de 7 mg/kg/día.

Lo que, para una persona de 70 kg, permitiría una ingestión diaria de 490 mg de ácido L-aspartico.

Hay que considerar que este aminoácido forma parte de alimentos básicos y se ingiere como metabolito del edulcorante aspartamo.

4.2.4 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, existen ensayos de toxicidad subcrónica en ratas a partir de los que se puede estimar que la ingestión diaria de 490 mg de ácido L-aspartico es admisible desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Por otra parte hay que tener en cuenta que este aminoácido forma parte de alimentos básicos y también se ingiere como metabolito del edulcorante aspartamo.

Referencias

- FNB/IOM (2002). Food and Nutrition Board/Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes. Disponible en: http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI_Energy/energy_full_report.pdf [acceso 22-09-15].
- Gil, A. (2005). En libro: *Tratado de Nutrición (tomo I)*. Madrid. Editorial Acción Médica.
- Hernández, M. y Sastre, A. (1999). En libro: *Tratado de Nutrición*. Madrid. Editorial Díaz de Santos.
- Schnainker, B. y Olney, J.W. (1974). Glutamate-type hypothalamic-pituitary syndrome in mice treated with aspartate or cysteate in infancy. *Journal of Neural Transmission*, 35, pp: 207-215.
- Tada, Y., Yano, N., Takahashi, H., Yuzawa, K., Ando, H., Kubo, Y., Nagasawa, A., Uehara, S., Ogata, A. y Nakae, D. (2008). Toxic effect of l-aspartic acid at high dose levels on kidneys and salivary glands in Fischer 344 rats detected in a 90-day feeding study. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (8), pp: 2789-95.

4.3 L-citrulina

4.3.1 Características y fuentes

La L-citrulina es un α -aminoácido perteneciente al grupo de los aminoácidos no proteicos. Se corresponde con el ácido (2S)-2-amino-5-(carbamoilamino) pentanoico y su fórmula química es $C_6H_{13}N_3O_3$ (Figura 2):

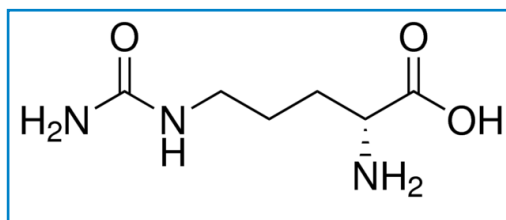


Figura 2. Fórmula estructural de la L-citrulina.

Se encuentra a niveles elevados en algunas cucurbitáceas tales como sandía, pepino, calabaza, calabacín, etc. (Kaore y Kaore, 2014), y en ciertas algas como *Grateloupia vulgaris* (Curis et al., 2005).

También está presente en verduras como las cebollas y ajos, y en alimentos proteicos como pescados, carne, legumbres y leche.

4.3.2 Nutrición y metabolismo

La L-citrulina es un aminoácido no esencial precursor de la L-arginina que forma parte del ciclo de la urea.

En el metabolismo de la citrulina libre intervienen tres enzimas: óxido nítrico sintasa (NOS) y ornitina carbamoiltransferasa (OCT) que producen citrulina, y argininosuccinato sintasa (ASS) que la transforma en arginina. La distribución tisular de estas enzimas da lugar a tres rutas metabólicas para la citrulina. En primer lugar, en el hígado la citrulina se sintetiza por la OCT y se metaboliza por la ASS para la producción de urea. En segundo lugar, en la mayoría de los tejidos que producen NO, la citrulina se recicla a arginina vía ASS para aumentar la disponibilidad de arginina para la producción de NO. Finalmente, en tercer lugar, la citrulina se sintetiza en el intestino a partir de glutamina (mediante la OCT), es liberada a la sangre y convertida a arginina en el riñón (por la ASS). De esta forma, la citrulina circulante es de hecho una forma enmascarada de la arginina para evitar ser captada por el hígado (Curis et al., 2005).

Varias proteínas contienen citrulina como resultado de una modificación post-traducciona. Estos residuos de citrulina son generados por una familia de enzimas llamadas Peptidil-Arginina Deiminadas (PADs), las cuales convierten arginina en citrulina en un proceso llamado citrulinación o deiminación. Proteínas que normalmente contienen residuos de citrulina incluyen: proteína básica de mielina (MBP), filagrina, y varias proteínas histonas, mientras que otras proteínas, tales como la fibrina y vimentina son susceptibles a la citrulinación durante la muerte celular y la inflamación de tejidos.

4.3.3 Seguridad

Son escasos los estudios de toxicidad realizados con L-citrulina. Pradilla et al. (2012) no observaron síntomas de toxicidad sistémica o neuronal en un análisis histopatológico en ratones expuestos por vía intraperitoneal hasta 200 mg/kg cada 8 horas durante 90 días.

Los estudios realizados en humanos no indican efectos tóxicos de la citrulina. Entre las dosis orales más altas usadas se encuentran 0,18 g/kg/día (aproximadamente 12,6 g/día considerando 70 kg de peso) durante 7 días (Thibault et al., 2011) y 15 g en dosis única (Moinard et al., 2008). No obstante, éste último aconsejaba una dosis de 10 g para su uso en la práctica clínica ya que dosis superiores no suponían un beneficio mayor. En estudios de suplementación a más largo plazo, por ejemplo Figueroa et al. (2015), no mencionan efectos adversos tras la administración oral de 6 g/día de L-citrulina durante 8 semanas en mujeres mayores. De igual forma, Rajantie et al. (1980) en niños tratados durante 2 años con 2-2,8 mg/día no advierten de signos de toxicidad.

EFSA ha publicado una opinión científica relativa a la verificación de una declaración de salud relativa a citrulina-malato: recuperación más rápida de la fatiga muscular tras el ejercicio, con resultado negativo (EFSA, 2014). En la solicitud se recomendaba una dosis diaria de 2-3 g para niños y 3-6 g para adultos, siendo la población diana niños sanos a partir de 6 años y adultos. Se debía tomar con las comidas, no se debía consumir durante el embarazo y lactancia, y el consumo no debía exceder de 4 semanas.

Tal y como se ha comentado previamente, la L-citrulina es un precursor de la L-arginina. A diferencia de la arginina que es extensamente captada por el hígado y metabolizada a urea, la citrulina sintetizada en el intestino pasa libremente a través del hígado, y es captada por el riñón (Osowska et al., 2004). En este órgano, aproximadamente el 80 % de la citrulina se transforma a arginina (Kaore y Kaore, 2014). Por ello, distintos autores consideran a la L-citrulina una buena alternativa a la suplementación con arginina (Hartman et al., 1994) (Osowska et al., 2004) al ser esta última catalizadora de la ureagénesis (Curis et al., 2005). Para la L-arginina, la AECOSAN propuso una cantidad máxima diaria de 3 g en su uso como complemento alimenticio (AECOSAN, 2012) a pesar de poderse establecer un *Observed Safe Level* (OSL) de 20 g/día con un nivel de confianza suficiente.

4.3.4 Conclusión

No se encuentran datos en la bibliografía científica de efectos adversos o alteraciones clínicas debidas a la ingesta oral de L-citrulina, por lo que no se puede establecer un valor de NOAEL/LOAEL para su administración oral. La AECOSAN propuso en 2012 una ingesta máxima diaria de 3 g para la L-arginina que fue considerada aceptable por el Comité Científico dado que existe un *Observed Safe Level* (OSL) de 20 g/día. Puesto que la L-citrulina es un precursor de ésta, el mismo valor, 3 g, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio, ya que existen estudios de suplementación con dosis mayores a largo plazo que no refieren signos de toxicidad.

Referencias

- AECOSAN (2012). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. 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. *Revista del Comité Científico de la AECOSAN*, 17, pp: 11-234.
- Curis, E., Nicolis, I., Moinard, C., Osowska, S., Zerrouk, N., Benazeth, S. y Cynober, L. (2005). Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids*, 29, pp: 177-205.
- EFSA (2014). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to

- citrulline-malate and faster recovery from muscle fatigue after exercise pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/20061. *The EFSA Journal*, 12 (5), pp: 3650.
- Figuroa, A., Álvarez-Alvarado, S., Ormsbee, M., Madzima, T.A., Campbell, J.C. y Wong, A. (2015) Impact of L-citrulline supplementation and whole-body vibration training on arterial stiffness and leg muscle function in obese postmenopausal women with high blood pressure. *Experimental Gerontology*, 63, pp: 35-40.
- Hartman, W.J., Torre, P.M. y Prior, R.L. (1994). Dietary citrulline but not ornithine counteracts dietary arginine deficiency in rats by increasing splanchnic release of citrulline. *Journal of Nutrition*, 124, pp: 1950-1960.
- Kaore, S.N. y Kaore, N.M. (2014). Capítulo 53. En libro: *Citrulline: pharmacological perspectives and role as a biomarker in diseases and toxicities. Biomarkers in Toxicology* (Elsevier). pp: 883-905.
- Moinard, C., Nicolis, I., Neveux, N., Darquy, S., Benazeth, S. y Cynober, L. (2008). Dose-ranging effects of citrulline administration on plasma amino acids and hormonal patterns in healthy subjects: the Citrudose pharmacokinetic study. *British Journal of Nutrition*, 99, pp: 855-862.
- Oowska, S., Moinard, C., Neveux, N., Loi, C. y Cynober, L. (2004). Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut*, 53, pp: 1781-1786.
- Pradilla, G., Garzon-Muvdi, T., Ruzevick, J., Bender, M., Edwards, L., Momin, E.N., Thompson, R.C. y Tamargo, R. (2012). Systemic L-citrulline prevents cerebral vasospasm in haptoglobin 2-2 transgenic mice after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 70 (3), pp: 747-756.
- Rajantie, J., Simell, O., Rapola, J. y Perheentupa, J. (1980). Lysinuric protein intolerance: A two-year trial of dietary supplementation therapy with citrulline and lysine. *The Journal of Pediatrics*, 97, pp: 927-932.
- Thibault, R., Flet, L., Vavas seur, F., Lemerle, M., Ferchaud-Roucher, V., Picotf, D. y Darmaun, D. (2011). Oral citrulline does not affect whole body protein metabolism in healthy human volunteers: Results of a prospective, randomized, double-blind, cross-over study. *Clinical Nutrition*, 30, pp: 807-811.

4.4 Glicina

La glicina ha sido clasificada como un aminoácido nutricionalmente no esencial para mamíferos debido a que es sintetizado de forma endógena. Sin embargo, se conoce que la cantidad de glicina sintetizada *in vivo* puede ser en ocasiones insuficiente y en estados crónicos de insuficiencia de glicina, entre otros efectos adversos, se han descritos efectos sobre el crecimiento y el sistema inmune (De Koning et al., 2003) (Lewis et al., 2005). Por ello, en la actualidad se cuestiona considerar a la glicina como un aminoácido condicionalmente esencial en el hombre principalmente para un óptimo crecimiento (Wu et al., 2013).

4.4.1 Características y fuentes

La glicina es un aminoácido de pequeño tamaño que se coloca en el interior hidrofóbico de las proteínas. Su resto es polar, pero sin carga. La glicina posee la cadena más simple, un átomo de hidrógeno. El peso molecular de este aminoácido es 75,07 g/mol y su fórmula estructural es la siguiente (Figura 3):

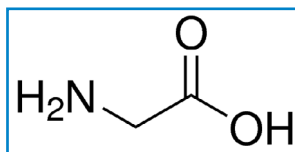


Figura 3. Fórmula estructural de la glicina.

Su punto isoeléctrico es 5,97. Se encuentra tanto en alimentos de origen animal tales como carnes, pescado, huevos y productos lácteos como en vegetales como las legumbres, verduras, patatas, frutas y cereales integrales.

La glicina tiene múltiples funciones fisiológicas. Es el principal componente del colágeno y la elastina que son las proteínas más abundantes en el organismo corporal. La glicina es el precursor de diversos e importantes metabolitos de bajo peso molecular tales como porfirinas, purinas, glutatión, grupo hemo y creatinina.

La glicina destaca como neurotransmisor inhibitorio en el SNC (Sistema Nervioso Central), jugando un papel importante en los tejidos nerviosos, así como también en la regulación epigenética. Por ello, algunos autores han descrito a la glicina como un aminoácido funcional en el campo de la nutrición (Zhong et al., 2003).

Se han identificado tres fases para la síntesis de glicina en animales y en el hombre (Wang et al., 2013). La glicina se sintetiza a partir de: 1) la serina, vía serina hidroximetiltransferasa (SHMT); 2) la colina, vía formación de sarcosina; y 3) la treonina, vía treonina dehidrogenasa.

4.4.2 Nutrición y metabolismo

El metabolismo de la glicina ocurre a través de tres fases: 1) decarboxilación y deaminación de la glicina por un sistema enzimático complejo; 2) conversión a serina por la enzima SHMT; y 3) conversión a glioxilato por la D-aminoacido oxidasa (Figura 4).

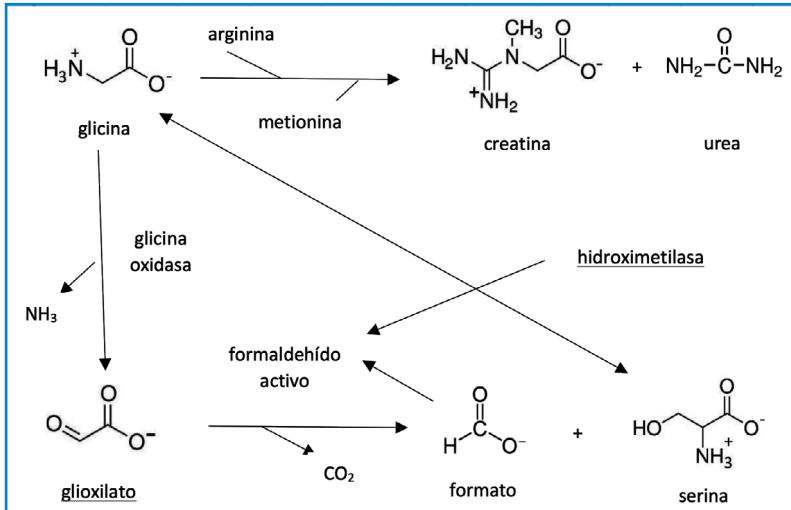


Figura 4. Metabolismo de la glicina. Fuente: (Wang et al., 1985).

La glicina y la serina tienen un metabolismo relacionado, ya que ambos derivan del ácido 3-P-glicérico, que es un intermediario de la glicolisis. Este ácido es oxidado y posteriormente transaminado para formar la 3-P-serina, que por hidrólisis del grupo fosfato formará la serina. La glicina se sintetiza a partir de la serina, en una reacción donde el tetrahidrofolato se convierte en N5,N10-Metilen tetrahidrofolato, quedando un resto de glicina (Gil, 2005).

La glicina tiene un receptor no-gabaérgico, que es común con otros aminoácidos como β -alanina, taurina, L-alanina, L-serina y prolina. Este receptor está localizado en las membranas neuronales postsinápticas (Matilla et al., 2002).

La glicina es también un aminoácido que forma parte de las reacciones de conjugación o de FASE II en la biotransformación de los tóxicos y fármacos. Mediante la enzima glicina N-acetil transferasa, forma conjugados con xenobióticos que pueden ser más fácilmente eliminados. Así, el ácido benzoico y el ácido salicílico son conjugados por la glicina (Repetto y Repetto, 2009).

4.4.3 Seguridad

Actualmente, no existen estudios suficientes de toxicidad de este aminoácido en animales y en el hombre que puedan ser objeto de un análisis para poder fijar un NOAEL. Futuros estudios podrán ayudar a elucidar la naturaleza de las alteraciones morfológicas celulares cerebrales inducidas por la administración de glicina. La *Federation of American Societies for Experimental Biology* para la *Food and Drug Administration* (FDA/FASEB, 1993) señala que el consumo de aminoácidos en forma de suplementos dietéticos puede suponer un riesgo para varios grupos de población con mujeres en edad fértil, niños, adolescentes, ancianos y personas enfermas. Hemos de tener en cuenta, que la glicina es sintetizada por el organismo y además está presente en alimentos de origen animal y vegetal. Desde el punto de vista de la seguridad, no existen datos que permitan fijar una cantidad de

ingesta diaria para el hombre. EFSA (2014) apunta que altas concentraciones de glicina del orden de 20 g/kg de alimento es segura para perros y gatos.

Se viene cuestionando sobre el papel de la glicina y otros aminoácidos excitatorios en la producción de neurodegeneración en el hombre. La aplicación de terapias a largo plazo con glicina en casos de esquizofrenia está asociada con efectos neurotóxicos. Se ha observado muerte neuronal inducida por isquemia con altos niveles de glutamato, glicina y ácido γ -amino butírico (Baker et al., 1991) (Globus et al., 1991).

Los primeros estudios realizados en animales de experimentación al objeto de recoger datos sobre la potencial neurotoxicidad de la glicina fueron realizados por Shoham et al. (1999). Ratas tratadas, como suplemento en dieta, durante 2 semanas con dosis de glicina 0,8 g/kg/día, y con dosis de 3,2 g/kg/día (cuatro veces las utilizadas en ensayos clínicos) no demostraron alteraciones morfológicas en las células cerebrales. Sin embargo, un tratamiento más prolongado, regímenes de 1 g/kg/día ó 5 g/kg/día durante 5 meses aunque no se demostró evidencia de degeneración neuronal si se observó una reducción de los canales de Ca^{++} (tipo-N, clase B) en regiones específicas cerebrales que podría ser una adaptación general al tratamiento de glicina a largo plazo (Shoham et al., 2001).

4.4.4 Conclusión

El Comité Científico considera que la información toxicológica disponible es insuficiente para determinar cuál sería la cantidad máxima diaria de glicina que se podría considerar segura en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Baker, A.J., Zernon, M.H., Sheller, M.S., Yaksh, T.L., Skilling, S.R., Smullin, D.H., Larson, A.A. y Kuczenski, R. (1991). Changes in extracellular concentration of glutamate, aspartate, glycine, dopamine, serotonin, and dopamine metabolites after transient global ischemia in the rabbit brain. *Journal of Neurochemistry*, 57, pp: 1370-1379.
- De Koning, T.J., Snell, K., Duran, M., Berger, R., Poll-The, B.T. y Surtees, R. (2003). L-serine in disease and development. *Biochemical Journal*, 371 (3), pp: 653-661.
- EFSA (2014). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the safety and efficacy of the use of amino acids (chemical group 34) when used as flavourings for all animal species. *The EFSA Journal*, 12 (5), 3670, pp: 1-19.
- FDA/FASEB. (1993). Food and Drug Administration. Center for food Safety and Applied Nutrition. Illnesses and injuries associated with the use of selected dietary supplements. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/dms/ds-ill.html> [acceso 17-04-07].
- Gil, A. (2005). El libro: *Tratado de nutrición (tomo I)*. Editorial Acción Médica. Madrid.
- Globus, M.Y.T., Ginsberg, M.D. y Busto, R. (1991). Excitotoxicity index -a biochemical marker of selective vulnerability. *Neuroscience Letters*, 127, pp: 39-42.
- Lewis, R.M., Godfrey, K.M., Jackson, A.A., Cameron, I.T. y Hanson, M.A. (2005). Low serine hydroxymethyltransferase activity in the human placenta has important implications for fetal glycine supply. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90 (3), pp: 1594-1598.
- Matilla, B., Mauriz, J.L., Culebras, J.M., González-Gallego, J. y González, P. (2002). La glicina: un nutriente antioxidante protector celular. *Nutrición Hospitalaria*, XVII (1), pp: 2-9.
- Repetto, M. y Repetto, G. (2009). En libro: *Toxicología fundamental*. Ediciones Díaz de Santos. Madrid.
- Shoham, S., Javitt, D.C. y Heresco-Levy, U. (1999). High dose glycine nutrition affects glial cell morphology in rat hippocampus and cerebellum. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2, pp: 35-40.

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.

Wu, G., Wu, Z., Dai, Z., Yang, Y., Wang, W., Liu, C., Wang, B., Wang, J.W. y Ying, Y. (2013). Dietary requirements of nutritionally non-essential amino acids by animals and humans. *Amino acids*, 44, pp: 1107-1113.

Zhong, Z., Wheeler, M.D., Li, X., Froh, M., Schemmer, P. y Yin, M. (2003). L-Glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolism Care*, 6, pp: 229-240.

4.5 L-prolina

4.5.1 Características y fuentes

La L-prolina es un aminoácido proteico cuyo α -amino no es una amina primaria sino secundaria. Se corresponde con el ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico y su fórmula química es $C_5H_9NO_2$. Su fórmula estructural es la siguiente (Figura 5):

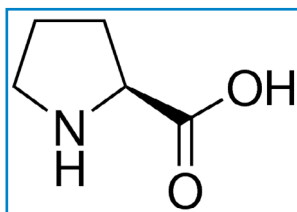


Figura 5. Fórmula estructural de la L-prolina.

Entre los alimentos ricos en L-prolina se encuentra la gelatina, la corteza de cerdo, la proteína de soja, algunos quesos o la leche en polvo.

4.5.2 Nutrición y metabolismo

La L-prolina es un aminoácido no esencial que se forma a partir de glutamato y que puede originar glutamato en su metabolización.

El semialdehído glutámico, que se forma de manera reversible a partir de glutamato mediante la glutamato quinasa y deshidrogenasa, puede transformarse reversiblemente en pirrolina-5-carboxilato para conectar con la formación de la prolina mediante la pirrolina carboxilato reductasa (Lehninger et al., 1995).

Es un aminoácido fundamental en la estructura del colágeno, sobre todo tras su formación pos-traducciona en hidroxiprolina, con el concurso de la vitamina C (Sánchez de Medina, 2010).

La hiperprolinemia es una enfermedad metabólica congénita que se produce cuando el aminoácido prolina no se puede degradar correctamente dando lugar a un aumento de sus niveles en sangre y orina. Se han descrito dos formas, la tipo I y la tipo II, debidas a deficiencias en las actividades de la prolina oxidasa y la ácido 1-pirrolina-5-carboxílico deshidrogenasa, respectivamente (Wise y Netto, 2011). En clínica estos pacientes presentan distintos fenotipos, algunos muestran defectos neurológicos, renales y/o auditivos mientras que otros son asintomáticos (Mitsubuchi et al., 2008) (Ferreira et al., 2014).

4.5.3 Seguridad

Existen diversos estudios de toxicidad de la prolina. Kampel et al. (1990) expusieron ratas por vía oral durante un mes a 50 mg/kg/día (~9 mg/día) de D-prolina y L-prolina. Se observaron cambios histopatológicos severos en el hígado (fibrosis y necrosis) y en el riñón (lesiones tubulares severas) en el grupo expuesto a D-prolina, sin embargo en el expuesto a L-prolina no se detectaron lesiones. Parámetros séricos como GOT, GPT, fosfatasa alcalina, gGT, LDH, HBDH y creatinina también estaban elevados de forma significativa en comparación con el control y el grupo expuesto a L-prolina. La toxicidad por tanto parece ser específica del isómero D, aunque los autores concluyeron que los efectos tóxicos no eran debidos a la D-prolina, ya que no se pudo detectar en los tejidos y el suero, sino a algún intermediario metabólico de la conversión de la D a la L-prolina.

Tada et al. (2010) realizaron un estudio subcrónico (90 días) por vía oral en ratas expuestas a 0; 0,625; 1,25; 2,5 y 5 % de L-prolina en la dieta. No observaron mortalidad ni signos clínicos. No obstante, sí encontraron cambios significativos en algunos parámetros de la hematología y bioquímica clínica, en el peso final de hembras 0,625 %, en el peso relativo del bazo de machos a partir de 2,5 % y en del hígado del grupo al 5 %, etc. Sin embargo, en el estudio histopatológico no encontraron daños que pudieran asociar al tratamiento. Concluyeron que los daños, aun siendo atribuibles al tratamiento eran insignificantes desde el punto de vista toxicológico. Por ello, establecieron como NOAEL la dosis administrada al grupo de 5 % de L-prolina en la dieta, 2 772,9 mg/kg/día para machos y 3 009,3 mg/kg/día para hembras (aproximadamente 194 g/día en humanos considerando el peor caso y un peso de 70 kg).

Existen evidencias desde antiguo que sugieren que la L-prolina puede actuar como modulador neuronal o transmisor en el sistema nervioso central (Takemoto y Semba, 2006). Parece haber una relación causal entre la hiperprolinemia tipo II y las manifestaciones neurológicas en la infancia (Phang et al., 2001). Se ha observado que la prolina tiene efectos adversos sobre el sistema nervioso (Nadler et al., 1988) (Moreira et al., 1989). Nadler et al. (1988) observaron que la L-prolina a una dosis de 400 nmol o mayor destruía el 32-66 % de las células piramidales y granulares en ratas a las que se les inyectó en el hipocampo, considerando a este aminoácido no sólo neuroexcitador sino también neurotóxico. También, Delwing et al. (2003) observaron que se producía estrés oxidativo en el córtex neuronal de ratas expuestas a una inyección subcutánea de 12,8 µmol/g (isómero no revelado), dosis seleccionada para alcanzar en el plasma niveles de prolina de 1-2 mM, similar a la que se encuentra en los pacientes con hiperprolinemia tipo II (Phang et al., 2001). De igual modo, se observó daño oxidativo en el ADN, proteínas y lípidos de la sangre de ratas a las que se les indujo experimentalmente una hiperprolinemia crónica, mediante la administración de entre 12,8 y 18,2 µmol/g de prolina (isómero sin identificar) entre los días 6 y 28 de vida (Ferreira et al., 2014).

Hay otros autores, sin embargo, que consideran inocua a la hiperprolinemia. Así, Hayasaka et al. (1985), en diferentes casos clínicos realizaron una suplementación con prolina durante 5 años con dosis de hasta 10 g/día durante 2 años, y no hicieron referencia alguna a efectos tóxicos.

La prolina no fue mutagénica por el test de Ames (isómero no especificado, 800 mg/kg (Green y Savage, 1978)); 2mM (L) (Sargentini y Smith, 1986), pero la L-prolina (10, 50, 100 µg/ml) sí produjo un

aumento de intercambio de cromátidas hermanas no dependiente de la concentración en linfocitos humanos (Xing y Na, 1996).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos alimentarios (JECFA) evaluó la L-prolina en su uso como aditivo alimentario y concluyó que no era un motivo de preocupación ya que su ingesta a través de los alimentos (5 210 mg/día) era mucho mayor (45 000 veces) que como aditivo alimentario (JECFA, 2006).

4.5.4 Conclusión

Tomando como referencia el estudio de Tada et al. (2010) por vía oral en ratas, en el que se establece como menor valor de NOAEL 2 772,9 mg/kg/día (aproximadamente 194 g/día en humanos considerando un peso de 70 kg) y utilizando un factor corrector de 1 000, dado que sí se observan alteraciones, se propone una cantidad máxima en complementos alimenticios de 2,8 mg/kg/día (aproximadamente 200 mg/día) de L-prolina en adultos. Esta recomendación se refiere a L-prolina y no a D-prolina o mezclas racémicas cuyo nivel de seguridad es menor. No se debe suministrar prolina a individuos con hiperprolinemia congénita, en especial a niños.

Referencias

- Delwing, D., Bavaresco, C.S., Wannmacher, C.M., Wajner, M., Dutra-Filho, C.S. y Wyse, A.T. (2003). Proline induces oxidative stress in cerebral cortex of rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 21, pp: 105-110.
- Ferreira, A., Scherer, E., da Cunha, A., Manfredini, V., Biancini, G., Vanzin, C., Vargas, C. y Wyse, A. (2014) Hyperprolinemia induces DNA, protein and lipid damage in blood of rats: Antioxidant protection. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 54, pp: 20-25.
- Green, N.R. y Savage, J.R. (1978). Screening of safrole, eugenol, their ninhydrin positive metabolites and selected secondary amines for potential mutagenicity. *Mutation Research*, 57, pp: 115-121.
- Hayasaka, S., Saito, T., Nakajima, H., Takahashi, O., Mizuno, K. y Tada, K. (1985) Clinical trials of vitamin B6 and proline supplementation for gyrate atrophy of the choroid and retina. *British Journal of Ophthalmology*, 69, pp: 283-290.
- JECFA (2006). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Sixty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, *WHO Food Additives Series*: 54. IPCS, WHO, Geneva.
- Kampel, D., Kupferschmidt, R. y Lubec, G. (1990). Toxicity of D-proline. En libro: *Amino Acids: Chemistry, Biology and Medicine*. Lubec, G. y Rosenthal, G.A. (Eds.), ESCOM, Leiden, The Netherlands. pp: 1164-1171.
- Lehninger, A., Nelson, D. y Cox, M. (1995). Cap. 21: Biosíntesis de aminoácidos, nucleótidos y moléculas relacionadas. En libro: *Principios de Bioquímica* (II Ed). Ediciones Omega. Barcelona. pp: 688-735.
- Mitsubuchi, H., Nakamura, K., Matsumoto, S. y Endo, F. (2008). Inborn errors of proline metabolism. *Journal of Nutrition*, 138, pp: 2016-2020.
- Moreira, J.C.F., Wannmacher, C.M.D., Costa S.M. y Wajner M. (1989). Effect of proline administration on rat behavior in aversive and nonaversive tasks. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 32, pp: 885-890.
- Nadler, J.V., Wang, A. y Hakim, A. (1988). Toxicity of L-proline toward rat hippocampal neurons. *Brain Research*, 456, pp: 168-172.
- Phang, J.M., Hu, C.A. y Valle, D. (2001). Disorders of proline and hydroxyproline metabolism. En libro: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed*. Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S. y Valle, D. (Eds.), McGraw-Hill, New York. pp: 1821-1838.

- Sánchez de Medina, F. (2010). Metabolismo de los aminoácidos. En libro: *Tratado de Nutrición*. Gil A (Ed). pp: 451-484.
- 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.
- Tada, Y., Yano, N., Takahashi, H., Yuzawa, K., Ando, H., Kubo, Y., Nagasawa, A., Ohashi, N., Ogata, A. y Nakae, D. (2010). Toxicological evaluation of L-proline in a 90-day feeding study with Fischer 344 rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58, pp: 114-120.
- Takemoto, Y. y Semba, R. (2006) Immunohistochemical evidence for the localization of neurons containing the putative transmitter L-proline in rat brain. *Brain Research*, 1073-1074, pp: 311-315.
- Xing, W. y Na, R. (1996). Amino acids excess increase SCEs in human lymphocytes. *Mutation Research*, 372, pp: 75-78.
- Wise, A. y Netto, C. (2011). Behavioral and neurochemical effects of proline. *Metabolic Brain Disease*, 26, pp: 159-172.

4.6 L-serina

La L-serina es un aminoácido clasificado como nutricionalmente no esencial, es sintetizado endógenamente en cantidades suficientes para mantener el balance de nitrógeno sin necesidad de una ingesta en la dieta (Sucil, 1984). La L-serina juega un papel versátil en el metabolismo intermediario de células eucariotas. La L-serina no solo participa en la síntesis de proteínas sino también es precursor de otros aminoácidos y biomoléculas que son esenciales para la función, diferenciación, crecimiento y proliferación celular. L-serina participa en la síntesis de glicina, L-cisteína, fosfatidilserina, esfingolípidos y D-serina. También participa indirectamente en la biosíntesis de purinas y pirimidinas. Tal es el papel fisiológico de la L-serina en la neurobiología de los mamíferos, en la salud y en la enfermedad, que se viene sugiriendo una reevaluación como aminoácido no esencial.

4.6.1 Características y fuentes

La serina ($C_3H_7NO_3$) tiene un peso molecular de 105,09 g/mol; su estructura química se presenta en la figura 6:

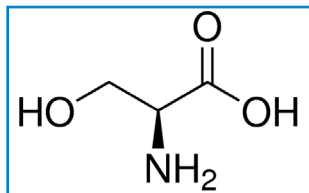


Figura 6. Estructura molecular de la serina.

La L-serina es indispensable para la síntesis de fosfatidilserina y esfingolípidos, componentes básicos de la membrana celular, importantes para el desarrollo y función del sistema nervioso (Dos Santos Fagundes et al., 2001). La L-serina funciona como un factor astrocítico esencial que promueve la diferenciación y supervivencia neuronal (Furuya y Watanabe, 2003). En el hombre, la fosfatidilserina principalmente se concentra en el cerebro donde representa el 15 % del almacén total de fosfolípidos. En general, se relaciona con la memoria y se encuentra en los productos de la soja y otros vegetales, en productos lácteos, en el huevo, en frutos secos y en la carne.

4.6.2 Nutrición y metabolismo

La biosíntesis de la serina comienza a partir del 3-fosfoglicerato, un intermedio de la fase glucolítica, con tres pasos secuenciales iniciados por la 3-fosfoglicerato dehidrogenasa (3PGDH), referida como fase fosforilada (Figura 7). También se puede obtener serina a partir de la ingesta dietaria y a partir de la degradación de proteínas y fosfolípidos. Sin embargo debido a que la permeabilidad de serina en la barrera hematoencefálica es baja, la fase fosforilada es la principal vía y particularmente importante en la síntesis y metabolismo de la serina en el cerebro. Se conoce que pacientes con deficiencia en la enzima 3PGDH presentan concentraciones plasmáticas reducidas de serina y glicina y sufren de diversos tipos de desórdenes neurológicos (De Koning et al., 1999) (Furuya, 2008).

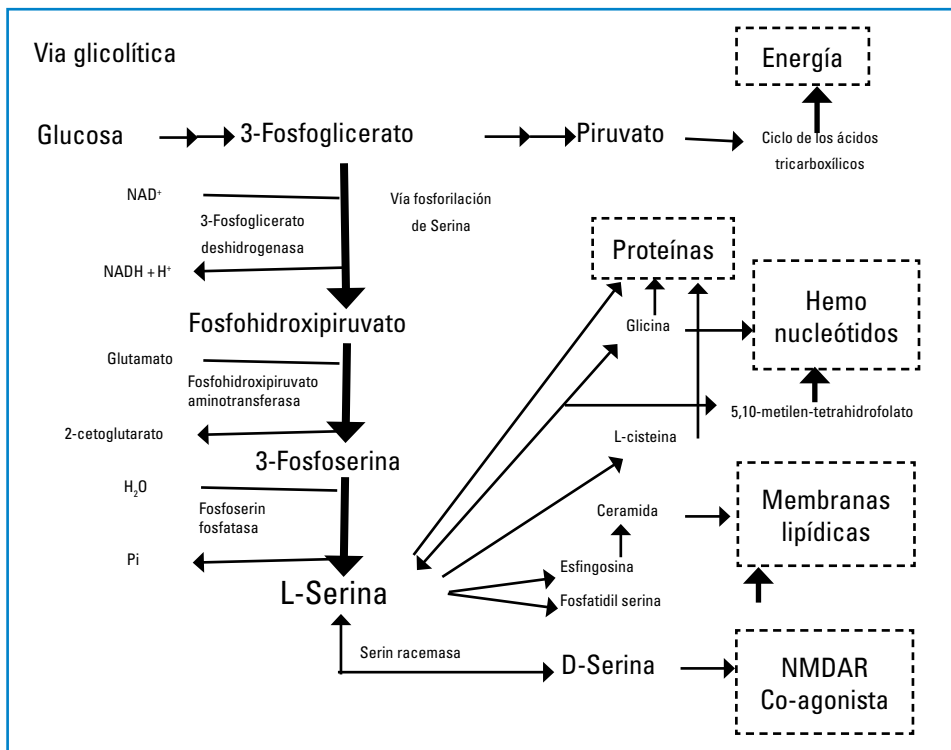


Figura 7. Síntesis de L-serina a partir del intermedio glicolítico (fase fosforilada) y su utilización para la síntesis de diversas biomoléculas. **Fuente:** (Furuya y Watanabe, 2003).

4.6.3 Seguridad

Los aminoácidos principalmente se aportan en la dieta no como aminoácidos libres sino más bien como constituyentes de proteínas. La seguridad de los aminoácidos consumidos en la dieta no presentan preocupación porque son nutrientes requeridos para la síntesis de componentes estructurales y funcionales del organismo y se consumen en grandes cantidades a partir de los alimentos como una parte esencial de la dieta. Sin embargo, recientemente, cada vez más, existe interés en el consumo de aminoácidos individuales como complementos alimenticios por sus efectos beneficiosos sobre la salud y sobre el rendimiento físico, como es el caso del aminoácido L-serina. Existe escasa información respecto a la seguridad de L-serina como suplemento dietario. Estudios en humanos señalan que cuatro sujetos sanos tratados con dosis única oral de 200 mg/kg p.c. de serina no muestran ningún efecto adverso (Pepplinkhuizen et al., 1980). Otro estudio realizado en una mujer embarazada que se le diagnosticó una deficiencia de la enzima 3PGDH en el feto, fue sometida a un tratamiento con dosis de serina de 190 mg/kg p.c., 3 dosis/día, durante las 20 semanas finales de la gestación, sin observarse en esta paciente ningún efecto adverso, ni en el feto, ni en el recién nacido (De Koning et al., 2004).

Jorissen et al. (2001, 2002) evalúan en un estudio controlado doble ciego y con placebo en humanos, sujetos sanos con alteración de la memoria asociada con la edad, la seguridad de la fosfatidilserina, derivada de la soja, a dosis de 300 y 600 mg durante 12 semanas de tratamiento. No se observaron efectos de signos de toxicidad, ni efectos en los parámetros bioquímicos y hematológicos y estos autores concluyen que como suplemento nutricional el nivel seguro observado de fosfatidilserina sería hasta dosis de 200 mg, tres veces al día.

Más recientemente Vakhapova et al. (2011) evalúan, en personas mayores con problemas de memoria, la seguridad de un tratamiento de fosfatidilserina (PS) junto con un ácido graso omega-3 (el ácido docosahexaenoico, DHA) a dosis de 300 mg PS y 79 mg DHA/día durante 15 semanas, o 100 mg PS y 26 mg DHA/día durante 30 semanas, en un ensayo clínico diseñado a doble ciego. En 157 participantes que recibieron 300 mg PS/día durante 15 semanas no se observó ningún efecto adverso. De estos pacientes, 121 participantes continuaron el tratamiento 15 semanas adicionales a dosis de 100 mg PS/día. En algunos de estos pacientes se observó una reducción de la presión sanguínea diastólica y un ligero aumento de la ganancia de peso corporal, efectos que fueron considerados leves. Como conclusión, los resultados de este estudio indican que el consumo de fosfatidilserina (PS) a dosis de 300 mg PS/día durante 15 semanas son seguras, bien toleradas y no producen efectos adversos en los parámetros estudiados (signos clínicos, parámetros bioquímicos y hematológicos). Estos resultados y dosis están en el rango de los descritos previamente por Jorissen et al. (2001, 2002), y por Richter et al. (2010, 2011).

Respecto a estudios de seguridad en animales de experimentación, Kaneko et al. (2009) realizan un estudio de toxicidad oral subcrónica, 13 semanas. En ratas, machos y hembras, tratadas vía oral con dosis de 500, 1 500 y 3 000 mg/kg p.c./día, no observaron mortalidad, ni ningún efecto referente a signos clínicos diarios, peso corporal y consumo de alimento. Tampoco observaron al final del ensayo ningún efecto adverso en los análisis hematológicos, bioquímicos en suero y orina, peso de los órganos, ni tampoco en los exámenes histopatológicos de todos los órganos. Concluyen

que a partir de este estudio se puede establecer un NOAEL de 3 000 mg/kg p.c./día. Este NOAEL relativamente alto sugiere que la L-serina pudiera ser bien tolerada en su uso a largo plazo como un suplemento dietario.

Debido a que el derivado acetilado de la L-serina (NAS) es uno de los más comunes aminoácidos N-acetilados de las proteínas y teniendo en cuenta que se ha estimado que aproximadamente el 90 % de las proteínas con residuos de serina están como N-acetilados (Driessen et al., 1985), recientemente Van de Mortel et al. (2010) evalúan la toxicidad del NAS en ratas. La toxicidad aguda oral fue evaluada a dosis límite de 2 000 mg/kg p.c., sin observarse mortalidad, ni efectos adversos. La toxicidad oral subcrónica fue evaluada también en ratas a dosis de NAS, durante 28 días, de 100, 500 y 1 000 mg/kg p.c./día, observándose un NOAEL para la toxicidad sistémica de 839,7 mg/kg p.c. y de 893,6 mg/kg p.c. para machos y hembras, respectivamente.

Lifshitz et al. (2015) realizan un ensayo de toxicidad de la reproducción y del desarrollo, sin observarse efectos adversos. Además, en otro estudio evalúan en ratas la genotoxicidad y la toxicidad subcrónica (dosis repetida 90 días) precedida de una fase de exposición del útero de una fosfatidilserina derivada de fosfolípidos de pescado (con un 49 % de fosfatidilserina); los niveles de dosis ensayados fueron 1 100, 2 200 y 3 400 mg/kg p.c./día. Los resultados demuestran que no es genotóxico, no afecta a la fertilidad o el desarrollo embrionario. No se observaron signos clínicos relacionados con el tratamiento, ni efectos en el peso corporal, ingesta de alimento y agua, parámetros hematológicos, bioquímica clínica, peso de órganos y exámenes histopatológicos para las dosis de 1 100 y 2 200 mg/kg p.c./día. En el grupo tratado con la dosis más alta (3 400 mg/kg p.c./día equivalente a 1 666 mg/kg p.c./día de fosfatidilserina) en las ratas hembras se observó en los exámenes histopatológicos una incidencia, categorizada de mínima a media, de mineralización corticomedular multifocal renal sin estar acompañada de degeneración renal, necrosis celular o cualquier otro cambio morfológico, bioquímico o fisiológico. Además también cinco ratas hembras control mostraron esta focal mineralización. Los datos generados de este estudio demuestran un NOAEL de 2 100 mg/kg/día equivalente a 1 029/kg p.c./día de fosfatidilserina.

4.6.4 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, una cantidad máxima diaria de 200 mg de L-serina, es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- De Koning, T.J., Duran, M., Dorland, L., Gooskens, R., Van Shaftingen, E., Jacken, J., Blau, N., Berger, R. y Poll-The, B.T. (1999). Beneficial effects of L-serine and glycine in the management of seizures in 3-phosphoglycerate dehydrogenase deficiency. *Annales of Neurology*, 44, pp: 261-265.
- De Koning, T.J., Klomp, L.W.J., van Oppen, A.C.C., Beemer, F.A., Dorland, L., van den Berg, I.E.T. y Berger, R. (2004). Prenatal and postnatal treatment in 3-phosphoglycerate-dehydrogenase deficiency. *Lancet*, 364, pp: 2221-2222.
- Dos Santos Fagundes, J., Rotta, L.N., Schweigert, I.D., Valle, S.C., De Olivera, K.R., Huth Kruger, A., Souza, KB.,

- Souza, D.O. y Perry, M.L. (2001). Glycine, serine and leucine metabolism in different regions of rat central nervous system. *Neurochemical Research*, 26, pp: 245-249.
- Driessen, H.P., De Jong, W.W., Tesser, G.I. y Bloemendal, H. (1985). The mechanism of N-terminal acetylation of proteins. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 18, pp: 281-325.
- Furuya, S. y Watanabe, M. (2003). Novel neuroglial and gliogial relationships mediated by L-serine metabolism. *Archives of Histology and Cytology*, 66 (2), pp: 109-121.
- Furuya, S. (2008). An essential role for de novo biosynthesis of L-serine in CNS development. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17 (SI), pp: 312-315.
- Jorissen, B.L., Brouns, F., Van Boxtel, M.P.J., Ponds, R.W.H.M., Verhey, F.R.J., Jolles, J. y Riedel, W.J. (2001). The Influence of Soy-derived Phosphatidylserine on Age-Associated Memory Impairment. *Nutritional Neuroscience*, 4, pp: 121-134.
- Jorissen, B.L., Brouns, E., Van Boxtel, M.P.J. y Riedel, W.J. (2002). Safety of soy-derived phosphatidylserine in elderly people. *Nutricional Neuroscience*, 5 (5), pp: 337-343.
- Kaneko, I., Han, L., iu, T., Li, J., Zhao, Y., Li, C., Yi, Y., Liang, A. y Hayamizu, K. (2009). A 13-week subchronic oral toxicity study of L-serine in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47, pp: 2356-2360.
- Lifshitz, Y., Levi, L., Eyal, I., Cohen, T. y Tessler, S. (2015). Sub-chronic (13-week) oral toxicity study, preceded by an in utero exposure phase and genotoxicity studies with fish source phosphatidylserine in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 86, pp: 234-244.
- Pepplinkhuizen, L., Bruinvels, J., Blom, W. y Moleman, P. (1980). Schizophrenia-like psychosis caused by a metabolic disorder. *Lancet*, 1, pp: 454-456.
- Richter, Y., Herzog, Y., Cohen, T. y Steinhart, Y. (2010). The effect of phosphatidylserine containing omega-3 fatty acids on memory abilities in subjects with subjective memory complaints: a pilot study. *Clinical Interventions in Aging*, 5, pp: 313-316.
- Richter, Y., Herzog, Y., Eyal, I. y Cohen, T. (2011). Cognitex supplementation in elderly adults with memory complaints: an uncontrolled open label trial. *Journal of Dietary Supplements*, 8, pp: 158-168.
- Sucil, K. (1984). Enzymes of serine metabolism in normal, developing and neoplastic rat tissues. *Advances in Enzyme Regulation*, 22, pp: 325-400.
- Van de Mortel, E.I.M., Shen, Z.A., Barnett, Jr.J.F., Krsmanovic, L., Myhre, A. y Delaney, B.F. (2010). Toxicology studies with N-acetyl-L-serine. *Food and Chemical Toxicology*, 48, pp: 2193-2199.
- Vakchapova, V., Richter, Y., Cohen, T., Herzog, Y. y Korczyn, A.D. (2011). Safety of phosphatidylserine containing omega-3 fatty acids in non-demented elderly: a double blind placebo-controlled trial followed by an open-label extension. *BMC Neurology*, 11, pp: 79-89.

4.7 L-arginina L-aspartato

4.7.1 Características y fuentes

Denominado también L-aspartato de L-arginina, se trata de la sal del ácido L-aspartico (o (S)-2-amino-butanodioico) de la L-arginina (o ácido (S)-2,6-diaminohexanoico) (1:1). No se encuentra como tal en los alimentos. Su fórmula molecular es $C_{10}H_{21}N_5O_6$ (Figura 8):

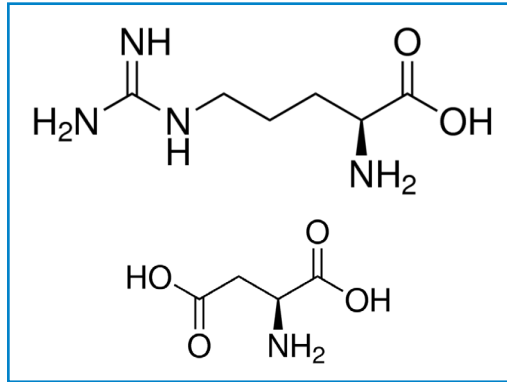


Figura 8. Estructura molecular de la L-arginina-L-aspartato.

El par de aminoácidos permanece unido por fuerzas electrostáticas a través de las cargas negativas de los grupos carboxilo y las positivas de los grupos amino.

4.7.2 Nutrición y metabolismo

Este compuesto no contiene un enlace peptídico y no requiere hidrólisis para dar lugar a los aminoácidos individuales. Se disocia en solución, tal y como ocurre en el estómago, y por tanto se absorberá en forma de aminoácidos individuales. Su biodisponibilidad y metabolismo será equivalente a la de los aminoácidos individuales (SCF, 2003). Los datos sobre la L-arginina están disponibles en un informe previo del Comité Científico de la AECOSAN (2012) y el ácido L-aspartico se encuentra descrito en este mismo documento en su sección 4.2.

4.7.3 Seguridad

La seguridad de la L-arginina fue evaluada por la AECOSAN (2012) y la del ácido L-aspartico en el presente informe.

Actualmente, el uso del L-aspartato de L-arginina está autorizado en alimentos para usos médicos especiales (UE, 2013).

Existen diversos estudios en la bibliografía sobre los efectos beneficiosos derivados de la administración de esta sustancia, por el efecto sinérgico de ambos aminoácidos en el metabolismo. Sin embargo, en la mayoría de ellos no se especifica la conexión entre ambos aminoácidos (Sallam y Steinbüchel, 2010), si se trata de una mezcla o del dipéptido, y la absorción de unos y otros tiene lugar por mecanismos diferentes (Matthews, 1972), lo que podría afectar a su biodisponibilidad. Aunque los estudios disponibles no estaban centrados en evaluar la seguridad, la mayoría tampoco hacen referencia a la detección de efectos adversos debidos al tratamiento. No obstante, Abel et al. (2005) y Colombani et al. (1999) concluyeron que no hay razones aparentes para utilizar la suplementación con aspartato de arginina como ergogénico, observando Colombani et al. (1999) que la administración de 15 g/día durante 14 días en corredores de fondo daba lugar a una reducción del

nivel plasmático de aminoácidos totales. Blazejewski et al. (2009) realizaron un ensayo en voluntarios sanos, tratados con 30 g/día de aspartato de arginina durante 21 días y observaron reacciones adversas de tipo digestivo (diarrea, flatulencias y en menor medida dolores de cabeza) así como una disminución en la secreción de IGF1 (factor de crecimiento insulínico tipo 1) y de IGFBP-3 (proteína 3 de unión al factor de crecimiento insulínico).

4.7.4 Conclusión

Si se consideran los aminoácidos individuales, para la suplementación con L-arginina se estableció un *Observed Safe Level* (OSL) de 20 g/día por lo que la propuesta de la AECOSAN de una cantidad máxima diaria de 3 g de L-arginina se consideró aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio (AECOSAN, 2012).

En relación al ácido L-aspartico el Comité Científico ha concluido (sección 4.2) que, existen ensayos de toxicidad subcrónica en ratas a partir de los que se puede estimar que la ingestión diaria de 490 mg de ácido L-aspartico es admisible desde el punto de vista de su seguridad. Por otra parte hay que tener en cuenta que este aminoácido forma parte de alimentos básicos y también se ingiere como metabolito del edulcorante aspartamo.

No obstante, para la L-arginina-L-aspartato, la información disponible sobre su seguridad es escasa y en muchos casos adolece de una adecuada caracterización de la sustancia objeto de ensayo. Por tanto, El Comité Científico considera que la información toxicológica disponible es insuficiente para determinar cuál sería la cantidad máxima diaria de L-arginina-L-aspartato que se podría considerar segura en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Abel, T., Knechtle, B., Perret, C., Eser, P., von Arx, P. y Knecht, H. (2005). Influence of chronic supplementation of arginine aspartate in endurance athletes on performance and substrate metabolism-a randomized double-blind, placebo-controlled study. *International Journal of Sports Medicine*, 26, pp: 344-349.
- AECOSAN (2012). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición sobre condiciones de uso de determinadas sustancias distintas de vitaminas, minerales y plantas para ser empleadas en complementos alimenticios-1. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 17, pp: 11-234.
- Blazejewski, S., Georges, A., Forest, K., Corcuff, J.B., Abouelfath, A., Girodet, P.O., Kamagate, M., Jacquet, A., Pillet, O., Bordenave, L. y Moore, N. (2009). The chronic oral administration of arginine aspartate decreases secretion of IGF-1 and IGFBP-3 in healthy volunteers. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 23, pp: 339-344.
- Colombani, P.C., Bitzi, R., Frey-Rindova, P., Frey, W., Arnold, M., Langhans, W. y Wenk, C. (1999). Chronic arginine aspartate supplementation in runners reduces total plasma amino acid level at rest and during a marathon run. *European Journal of Nutrition*, 38, pp: 263-270.
- Matthews, D.M. (1972). Intestinal absorption of amino acids and peptides. *Proceedings of the Nutrition Society*, 31, pp: 171-177.
- Sallam, A. y Steinbüchel, A. (2010). Dipeptides in nutrition and therapy: cyanophycin-derived dipeptides as natural alternatives and their biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, pp: 815-828.

SCF (2003). Scientific Committee on Food. Statement of the Scientific Committee on Food on L-serine and some amino acid-amino acid salts for use in foods for particular nutritional purposes. SCF/CS/ADD/NUT/55 Final. 2 April 2003.

UE (2013). Reglamento (UE) N° 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de junio de 2013 relativo a los alimentos destinados a los lactantes y niños de corta edad, los alimentos para usos médicos especiales y los sustitutivos de la dieta completa para el control de peso y por el que se derogan la Directiva 92/52/CEE del Consejo, las Directivas 96/8/CE, 1999/21/CE, 2006/125/CE y 2006/141/CE de la Comisión, la Directiva 2009/39/CE del Parlamento Europeo y del Consejo y los Reglamentos (CE) N° 41/2009 y (CE) N° 953/2009 de la Comisión. DO L 181 de 29 de junio de 2013, pp: 35-56.

4.8 L-lisina-L-aspartato

4.8.1 Características y fuentes

Denominado también L-aspartato de L-lisina, se trata de la sal del ácido L-aspártico (o (S)-2-amino-butanodioico) de la L-lisina (o ácido (S)-2,6-diaminohexanoico) (1:1). No se encuentra como tal en los alimentos. Su fórmula molecular es $C_{10}H_{21}N_3O_6$ (Figura 9):

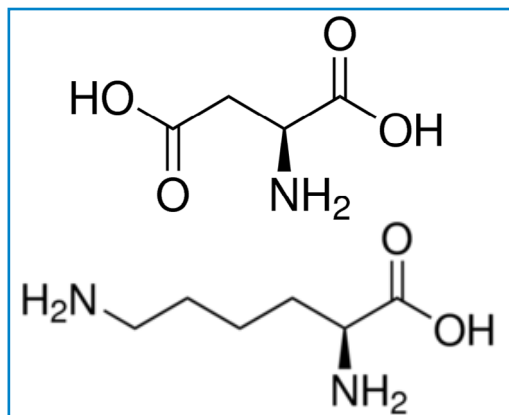


Figura 9. Estructura molecular de la L-lisina-L-aspartato.

El par de aminoácidos permanece unido por fuerzas electrostáticas a través de las cargas negativas de los grupos carboxilo y las positivas de los grupos amino.

4.8.2 Nutrición y metabolismo

Este compuesto no contiene un enlace peptídico y no requiere hidrólisis para dar lugar a los aminoácidos individuales. Se disocia en solución, tal y como ocurre en el estómago, y por tanto se absorberá en forma de aminoácidos individuales. Su biodisponibilidad y metabolismo será equivalente a la de los aminoácidos individuales (SCF, 2003). Los datos sobre la L-lisina están disponibles en un informe previo del Comité Científico de la AECOSAN (2012) y el ácido L-aspártico se encuentra descrito en este mismo documento en su sección 4.2.

4.8.3 Seguridad

La seguridad de la L-lisina fue evaluada por la AECOSAN (2012) y la del ácido L-aspartico en el presente informe.

Actualmente, el uso del L-aspartato de L-lisina está autorizado en alimentos para usos médicos especiales (UE, 2013).

Los estudios sobre preparaciones consistentes en aspartato y lisina son muy escasos (Sallam y Steinbüchel, 2010), conociéndose tan solo su uso en el tratamiento de la fatiga muscular y de las contracciones musculares involuntarias (Morelle y Lauzanne, 1984). No se dispone de información sobre una posible interacción de efectos tras su administración conjunta.

4.8.4 Conclusión

Si se consideran los aminoácidos individuales, con respecto a la L-lisina, el Comité Científico concluyó que, en función de la información disponible en dicho momento, la propuesta de la AECOSAN (2012) de una cantidad máxima diaria de 2 250 mg de L-lisina, era aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

En relación al ácido L-aspartico el Comité Científico ha concluido (sección 4.2) que, existen ensayos de toxicidad subcrónica en ratas a partir de los que se puede estimar que la ingestión diaria de 490 mg de ácido L-aspartico es admisible desde el punto de vista de su seguridad. Por otra parte hay que tener en cuenta que este aminoácido forma parte de alimentos básicos y también se ingiere como metabolito del edulcorante aspartamo.

No obstante, para la L-arginina-L-aspartato, el Comité Científico considera que la información toxicológica disponible es insuficiente para determinar cuál sería la cantidad máxima diaria que se podría considerar segura en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AECOSAN (2012). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. 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. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 17, pp: 11-234.
- Morelle, J.V. y Lauzanne-Morelle, E.M.T. (1984). Derivatives of lysine and aspartic acid. US Patent 4447366.
- Sallam, A. y Steinbüchel, A. (2010). Dipeptides in nutrition and therapy: cyanophycin-derived dipeptides as natural alternatives and their biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, pp: 815-828.
- SCF (2003). Scientific Committee on Food. Statement of the Scientific Committee on Food on L-serine and some amino acid-amino acid salts for use in foods for particular nutritional purposes. SCF/CS/ADD/NUT/55 Final. 2 April 2003.
- UE (2013). Reglamento (UE) N° 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de junio de 2013 relativo a los alimentos destinados a los lactantes y niños de corta edad, los alimentos para usos médicos especiales y los sustitutivos de la dieta completa para el control de peso y por el que se derogan la Directiva 92/52/CEE del Consejo, las Directivas 96/8/CE, 1999/21/CE, 2006/125/CE y 2006/141/CE de la Comisión, la Directiva 2009/39/CE del Parlamento Europeo y del Consejo y los Reglamentos (CE) N° 41/2009 y (CE) N° 953/2009 de la Comisión. DO L 181 de 29 de junio de 2013, pp: 35-56.

4.9 L-lisina-L-glutamato

4.9.1 Características y fuentes

Denominado también L-glutamato de L-lisina, se trata de la sal del ácido L-glutámico (o ácido 2-aminopentanodioico) de la L-lisina (o ácido 2,6-diaminohexanoico) (1:1). No se encuentra como tal en los alimentos. Su fórmula molecular es $C_{11}H_{23}N_3O_6$ (Figura 10):

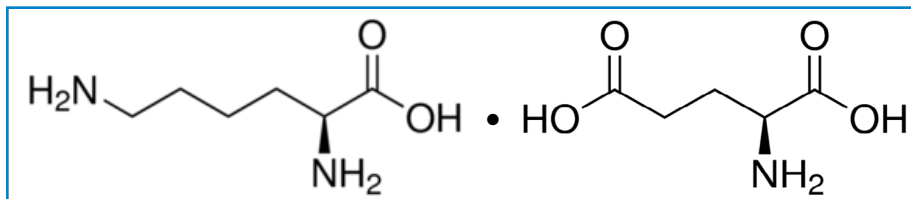


Figura 10. Estructura molecular de la L-lisina-L-glutamato.

El par de aminoácidos permanece unido por fuerzas electrostáticas a través de las cargas negativas de los grupos carboxilo y las positivas de los grupos amino.

4.9.2 Nutrición y metabolismo

Este compuesto no contiene un enlace peptídico y no requiere hidrólisis para dar lugar a los aminoácidos individuales. Se disocia en solución, tal y como ocurre en el estómago, y por tanto se absorberá en forma de aminoácidos individuales. Su biodisponibilidad y metabolismo será equivalente a la de los aminoácidos individuales (SCF, 2003). Los datos sobre ambos aminoácidos están disponibles en un informe previo del Comité Científico de la AECOSAN (2012).

4.9.3 Seguridad

La seguridad de ambos aminoácidos individuales fue evaluada por la AECOSAN (2012).

Actualmente, el uso del L-glutamato de L-lisina está autorizado en alimentos para usos médicos especiales (UE, 2013).

Los estudios sobre preparaciones consistentes en glutamato y lisina son muy escasos y no se dispone de información sobre una posible interacción de sus efectos.

4.9.4 Conclusión

Si se consideran los aminoácidos individuales, con respecto a la L-lisina, el Comité Científico concluyó que, en función de la información disponible en dicho momento, la propuesta de la AECOSAN (2012) de una cantidad máxima diaria de 2 250 mg de L-lisina, era aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

El Comité Científico consideró 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 concluyó que una cantidad máxima de 1 g/día era aceptable desde

el punto de vista de su seguridad en su uso como ingrediente en los complementos alimenticios.

No obstante, para la L-lisina-L-glutamato, el Comité Científico considera que la información toxicológica disponible es insuficiente para determinar cuál sería la cantidad máxima diaria que se podría considerar segura en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- AECOSAN (2012). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. 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. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 17, pp: 11-234.
- SCF (2003). Scientific Committee on Food. Statement of the Scientific Committee on Food on L-serine and some amino acid-amino acid salts for use in foods for particular nutritional purposes. SCF/CS/ADD/NUT/55 Final. 2 April 2003.
- UE (2013). Reglamento (UE) N° 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de junio de 2013 relativo a los alimentos destinados a los lactantes y niños de corta edad, los alimentos para usos médicos especiales y los sustitutivos de la dieta completa para el control de peso y por el que se derogan la Directiva 92/52/CEE del Consejo, las Directivas 96/8/CE, 1999/21/CE, 2006/125/CE y 2006/141/CE de la Comisión, la Directiva 2009/39/CE del Parlamento Europeo y del Consejo y los Reglamentos (CE) N° 41/2009 y (CE) N° 953/2009 de la Comisión. DO L 181 de 29 de junio de 2013, pp: 35-56.

4.10 N-acetil-L-cisteína

4.10.1 Propuesta

La AECOSAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para la N-acetil-L-cisteína en complementos alimenticios de 300 mg. La propuesta se basa en que dosis superiores, se consideran medicamento en España.

4.10.2 Características y fuentes

La N-acetil-L-cisteína, N-acetil-cisteína o N-acetil-3-mercaptopalanina es un derivado acetilado de la cisteína. La cisteína es un aminoácido azufrado proteínogeno no esencial, polar e hidrosoluble (Mataix, 2002).

Es un polvo cristalino, blancuzco, muy soluble en agua y otros disolventes polares como el alcohol etílico. Su fórmula estructura molecular es la siguiente (Figura 11):

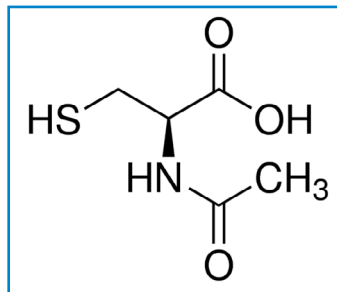


Figura 11. Estructura molecular de N-acetil-cisteína.

Su peso molecular es 163,2 g/mol. Tiene acción antioxidante por la presencia de grupos -SH en su molécula.

La L-cisteína se contempla como suplemento “anti-edad” por sus propiedades antioxidantes. Es un antioxidante indirecto, facilita la biosíntesis de glutatión, puede aumentar la actividad de la enzima glutatión-S-transferasa proporcionando glutatión para la detoxificación de peróxidos, reacción catalizada por la enzima glutatión-peroxidasa (Moldeus y Cotgreave, 1994).

La N-acetilcisteína se utiliza como agente mucolítico, ya que es capaz de romper los puentes disulfuro de las proteínas que componen las secreciones respiratorias.

Asimismo, es el antídoto del paracetamol o acetaminofeno, ya que actúa donando grupos -SH, restaurando los niveles de glutatión reducido e impidiendo que los hepatocitos sean dañados por el estrés oxidativo producido por algún metabolito tóxico del paracetamol (p-benzoquinonimina) (Brayfield, 2014).

La obtención de N-acetilcisteína se lleva a cabo acetilando el clorhidrato de L-cisteína con anhídrido acético en medio alcalino acuoso. Este compuesto se determina analíticamente por cromatografía líquida de alta resolución (EFSA, 2003).

4.10.3 Nutrición y metabolismo

Una enzima importante que contribuye a la regulación de los niveles en estado estacionario de cisteína intracelular es la cisteína dioxigenasa (CDO) expresada en altos niveles en el hígado, con bajos niveles en el riñón, cerebro y pulmón; la CDO es una metaloenzima de hierro que cataliza la adición del oxígeno molecular al grupo sulfhidrilo de la cisteína, originando el ácido cistein-sulfínico.

El catabolismo oxidativo de la cisteína a cisteinasulfinato por la CDO representa una pérdida irreversible de cisteína del *pool* de aminoácidos; cisteinasulfinato es transportada por diferentes vías que incluyen síntesis de hipotaurina/taurina, producción de sulfito/sulfato, y generación de piruvato (Figura 12). Datos *in vivo* sugieren que el hígado es el órgano con mayor contenido de expresión y actividad de CDO (García y Stipanuk, 1992). El hígado es una salvaguardia frente a la ingesta oral en dieta de un exceso de cisteína. Individuos con insuficiencia hepática o con déficit de la enzima CDO presentan un mayor riesgo a la ingesta de un exceso de cisteína.

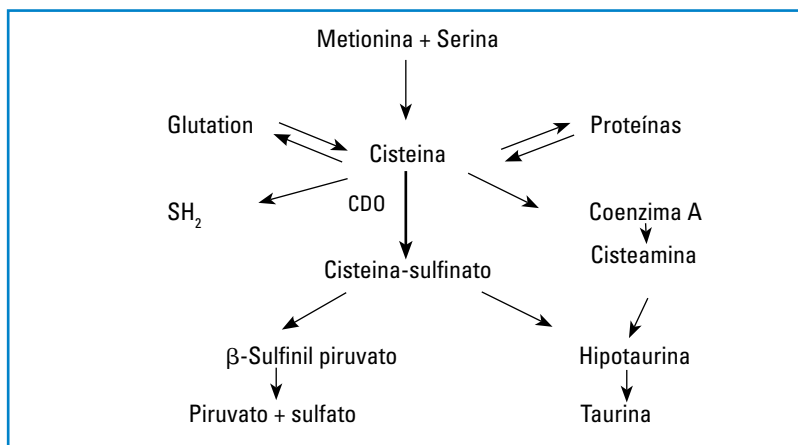


Figura 12. Principales vías del metabolismo de cisteína. **Fuente:** (Stipanuk et al., 2006).

La administración de N-acetil-L-cisteína por vía oral tanto en roedores como en humanos, tiene una absorción rápida. Tras lo cual, el compuesto se desacetila y circula por el torrente sanguíneo ligado a proteínas plasmáticas. Estudios farmacocinéticos en pacientes con desórdenes respiratorios (Rodenstein et al., 1978) demuestran que las concentraciones máximas plasmáticas se alcanzan a las 2-3 horas tras la administración oral y que entre un 13-38 % de la dosis oral administrada se recupera en la orina en 24 horas. Otros estudios, describen también en el hombre que tras administración oral de 600 mg de N-acetil-L-cisteína, se obtiene una biodisponibilidad del 6-10 % y tras administración intravenosa de 600 mg de N-acetil-L-cisteína se observa una semivida plasmática de eliminación de 2,27 horas. La administración oral de N-acetil-L-cisteína, a pesar de su baja biodisponibilidad, es clínicamente eficaz; sufre circulación entero-hepática (fenómeno de primer paso) y por ello los hepatocitos disponen de grupos tiol para la síntesis de glutatión (Borgstrom et al., 1986).

La N-acetil-L-cisteína al ser una fuente de L-cisteína, es desde el punto de vista nutricional un precursor de L-cisteína y su valor nutricional se corresponde al de este último aminoácido. La N-acetil-L-cisteína es desacetilada a L-cisteína en los tejidos. El grado de esta desacetilación puede verse afectado en presencia de otros N-acetil derivados como fuentes de sus respectivos aminoácidos. No se conoce la biodisponibilidad de L-cisteína a partir de N-acetil-L-cisteína en presencia de otros N-acetil amino derivados, dato necesario como soporte del uso de este producto (EFSA, 2003).

4.10.4 Seguridad

El hígado en los mamíferos regula el contenido de cisteína libre intracelular. Los niveles de cisteína deben ser lo suficientemente altos para la síntesis de proteínas y para la producción de otras moléculas esenciales tales como glutatión, coenzima A, taurina, y sulfuro inorgánico. Pero al mismo tiempo las concentraciones de cisteína deben ser mantenidas por debajo del umbral de citotoxicidad. Niveles tisulares de cisteína elevados pueden conducir a una autooxidación de

cisteína formando cistina, especies reactivas de oxígeno (ROS), oxidación de grupos tiol, neurotoxicidad mediada por receptores NMDA tipo glutamato, y exceso de producción de H₂S (Stipanuk et al., 2006).

La toxicidad por exceso de cisteína se ha demostrado en diversos modelos de animales (Lehmann, 1987) (Andine et al., 1991) (Lehmann et al., 1993) y altos niveles de cisteína por administración crónica están asociados con artritis reumatoide (Bradley et al., 1994) con enfermedad de Parkinson y de Alzheimer (Heafield et al., 1990), lupus eritematoso (Gordon et al., 1992), efecto cardiovascular (Ozkan et al., 2002) y complicaciones en el embarazo (El-Khairi et al., 2003).

Bonamoni y Gazzamiga (1980), revisaron los estudios de toxicidad aguda y subcrónica en ratas *Sprague-Dawley* y en perros *Beagle*. También recogieron estudios de embriotoxicidad y reproducción en ratas y conejos y test de mutagenicidad *in vitro*. Se observó que en los estudios de toxicidad crónica en ratas *Sprague-Dawley* dosis de hasta 1 000 mg/kg/día no afectaban al comportamiento, ganancia de peso, hematología, función hepática y renal ni al tiempo de coagulación y protrombina. Las necropsias y los exámenes histológicos no revelaron lesión patológica alguna. Por todo ello y considerando la dosis de 1 000 mg/kg como aquella dosis máxima para la que no se aprecia daño efecto adverso observable en roedores, el NOAEL podría ser 1 000 mg/kg. Dividiendo el NOAEL por un factor de incertidumbre de 100, y considerando 70 kg como el peso corporal del hombre, tendríamos una IDA de 700 mg/día.

Los estudios disponibles en el hombre apuntan que la L-cisteína es bien tolerada, sin embargo la dosis máxima para efectos gastrointestinales tales como vómito y diarrea no ha podido ser definida. Dosis de 1,8 g/día en pacientes con hepatitis crónica originan alteraciones gastrointestinales (Beloqui et al., 1993). La dosis terapéutica como agente mucolítico es de 0,4-0,6 g/día (EFSA, 2003).

4.10.5 Conclusión

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

Referencias

- Andine, P., Orwar, O., Jacobson, I., Sandberg, M. y Hagberg, H. (1991). Extracellular acidic sulfur-containing amino acids and gamma-glutamyl peptides in global ischemia: posts ischemic recovery of neuronal activity is paralleled by a tetrodotoxinsensitive increase in cysteine sulfinic acid in the CA1 of the rat hippocampus. *Journal of Neurochemistry*, 57, pp: 230-236.
- Beloqui, O., Prieto, J., Suarez, M., Gil, B., Qian, C.H., Garcia, N. y Civeira, M.P. (1993). N-acetyl cysteine enhances the response to interferon- α in chronic hepatitis C: a pilot study. *Journal of interferon & cytokine research*, 13, pp: 279-282.
- Bonamoni, L. y Gazzaniga, A. (1980). Toxicological, pharmacokinetic and metabolic studies on acetylcysteine. *European Journal respiratory disease*, 61 (Suppl. III), pp: 45-61.

- Borgström, L., Kagedal, B. y Paulsen, O. (1986). Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 31, pp: 217-222.
- Bradley, H., Gough, A., Sokhi, R.S., Hassell, A., Waring, R. y Emery, P. (1994). Sulfate metabolism is abnormal in patients with rheumatoid arthritis. Confirmation by *in vivo* biochemical findings. *Journal of Rheumatology*, 21, pp: 1192-1196.
- Brayfield, A. (2014). Martindale. The complete drug reference. Pharmaceutical Press. U.K.
- 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 N-acetyl-L-cysteine for use in foods for particular nutritional uses and in foods for special medical purposes. *The EFSA Journal*, 21, pp: 1-8.
- El-Khairi, L., Vollset, S.E., Refsum, H. y Ueland, P.M. (2003). Plasma total cysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77, pp: 467-472.
- García, R.A. y Stipanuk, M.H. (1992). The splanchnic organs, liver and kidney have unique roles in the metabolism of sulfur amino acids and their metabolites in rats. *Journal of Nutrition*, 122, pp: 1693-1701.
- Gordon, C., Bradley, H., Waring, R.H. y Emery, P. (1992). Abnormal sulphur oxidation in systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 339, pp: 25-26.
- Heafield, M.T., Fearn, S., Steventon, G.B., Waring, R.H., Williams, A.C. y Sturman, S.G. (1990). Plasma cysteine and sulphate levels in patients with motor neurone, Parkinson's and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letter*, 110, pp: 216-220.
- Lehmann, A. (1987). Alterations in hippocampal extracellular amino acids and purine catabolites during limbic seizures induced by folate injections into the rabbit amygdala. *Neuroscience*, 22, pp: 573-578.
- Lehmann, A., Hagberg, H., Orwar, O. y Sandberg, M. (1993). Cysteine sulphinate and cysteate: mediators of cysteine toxicity in the neonatal rat brain? *European Journal of Neuroscience*, 5, pp: 1398-1412.
- Mataix, J. (2002). En libro: *Nutrición y alimentación humana (Tomo I)*. Editorial Ergon. Madrid.
- Moldeus, P. y Cotgreave, I.A. (1994). N-Acetylcysteine. *Methods in enzymology*, 34, pp: 482-492.
- Ozkan, Y., Ozkan, E. y Simsek, B. (2002). Plasma total homocysteine and cysteine levels as cardiovascular risk factors in coronary heart disease. *International Journal of Cardiology*, 82, pp: 269-277.
- Rodenstein, D., de Coster, A. y Gazzaniga, A. (1978). Pharmacokinetics of oral acetylcysteine: Absorption, binding and metabolism in patients with respiratory disorders. *Clinical Pharmacokinetics*, 3, pp: 247-254.
- Stipanuk, M.H., Dominy, J.E.Jr., Lee, J.I. y Coloso, R.M. (2006). Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism. *Journal of Nutrition*, 136 (6), pp: 1652S-1659S.

4.11 N-acetil-L-metionina

4.11.1 Propuesta

La N-acetil-L-metionina es una fuente esencial del aminoácido metionina para su uso en alimentos para propósitos médicos especiales en niños con más de 1 año de edad y para adultos.

La AECOSAN ha propuesto una cantidad máxima de 2,5 mg/kg/día (175 mg/día para una persona de 70 kg) de N-acetil-L-metionina en adultos desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

4.11.2 Características y fuentes

Los sinónimos químicos de la N-acetil-L-metionina son: ácido L-2-acetilamino-4-metiltiobutírico o ácido-2-acetilamino-4-metiltiobutanoico. Su peso molecular es 191,25 g/mol del cual el 78 % corresponde a L-metionina. La estructura molecular es la siguiente (Figura 13):

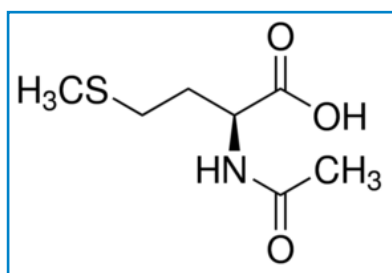


Figura 13. Fórmula estructural de la N-acetil-L-metionina.

Es un polvo blanco y cristalino con ligero olor. La N-acetil-L-metionina se obtiene por acetilación de la L-metionina. La L-metionina es un aminoácido permitido para uso en alimentos con fines nutricionales. La modificación de L-metionina a N-acetil-L-metionina mejora la palatabilidad del producto en la dieta, sin comprometer su valor biológico. La N-acetil-L-metionina esta propuesta como fuente de metionina en niños y en adultos.

4.11.3 Nutrición y metabolismo

El metabolismo de la N-acetil-L-metionina implica la hidrólisis a L-metionina por acción de la enzima acilasa-I, enzima que se encuentra en muchos tejidos (intestino, hígado y riñón) de muchos mamíferos, capaz de utilizar aminoácidos de derivados acil, endógenos y exógenos (Giardina, 1997) (Baxter et al., 2002). Esta deacetilación se ha demostrado tanto en estudios *in vivo* como *in vitro* (Francis y Smith, 1975). En humanos se ha observado que administrando cantidades equimolares por vía oral de L-metionina y N-acetil-L-metionina a voluntarios sanos, hombres y mujeres, la cantidad de metionina encontrada en plasma fue similar a partir de los 15 minutos después de la administración de los dos compuestos (Stegink et al., 1980). Estos hechos demuestran que la N-acetil-L-metionina es una buena fuente de L-metionina.

Desde el punto de vista nutricional, la ingesta diaria requerida estimada de metionina+cisteína

para niños de 7 meses hasta 18 años es del orden de 22 mg/kg p.c. y para adultos es del orden de 15-19 mg/kg p.c., que corresponde alrededor de 1 g/día para adultos de 60 kg de peso corporal (IOM, 2005). Los efectos tóxicos potenciales de la N-acetil-L-metionina radican en una excesiva ingesta de metionina que se manifiesta principalmente por una disminución de la ingesta de alimentos y de la ganancia de peso corporal junto con lesión tisular.

La L-metionina es un aminoácido esencial cuyo metabolismo implica conversión a S-adenosil L-metionina por la enzima metionina-adenosiltransferasa que principalmente se localiza en el hígado. Esta reacción viene catalizada por el ATP que dona su grupo adenosil a la metionina y forma fosfato inorgánico y pirofosfato. El compuesto formado, a su vez, dona su grupo metil y forma S-adenosil L-homocisteína y su hidrólisis origina homocisteína y adenosina. Seguidamente la L-homocisteína en combinación con serina se transforma en L-cistationina que a su vez se transforma en α -ceto-butirato y L-cisteína (Figura 14).

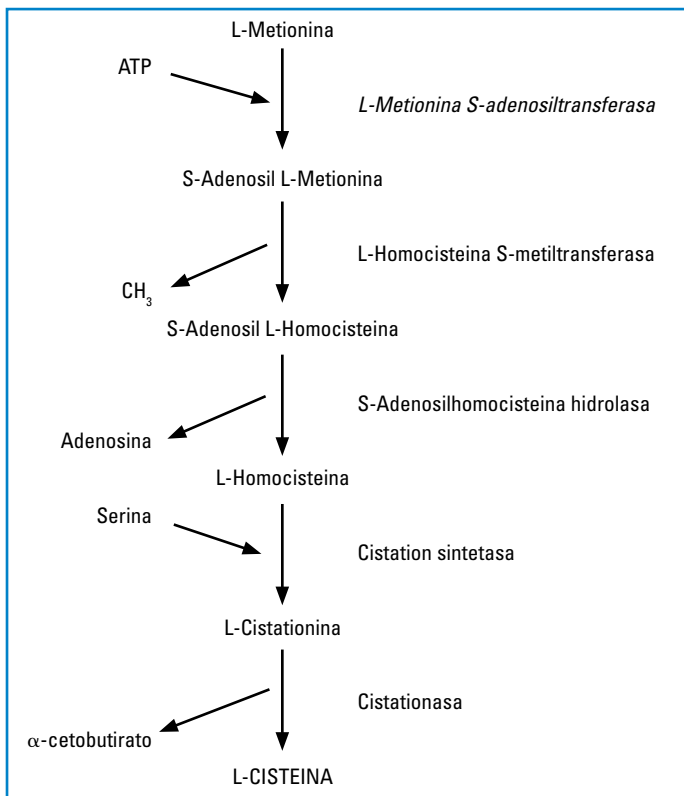


Figura 14. Metabolismo de la L-metionina. **Adaptado de:** (Laster et al., 1965).

4.11.4 Seguridad

No existen datos para caracterizar la relación dosis-respuesta para la L-metionina. Los datos sobre efectos adversos de L-metionina a partir de complementos alimenticios son considerados insuficientes para una evaluación dosis-respuesta y poder derivar un UL (límite máximo tolerable) para el hombre.

Desde 1960, se viene comunicando que niños con desórdenes de homocisteinuria sufren frecuentes trombosis arteriales y venosas (McCully, 1969). En 1985, ya se discute si la intolerancia a metionina constituye un riesgo potencial de enfermedad coronaria arterial (Murphy-Chutorian et al., 1985) y se sugiere que pacientes de edad menor a 30 años con hiperhomocisteinemia tienen una mayor probabilidad (alrededor de un 50 %) de sufrir un accidente vascular (Mudd, 1985).

Una importante cuestión en relación con la posible toxicidad de metionina es si surge como respuesta directa a la metionina o si se deriva por una carga excesiva de metionina que origina un aumento de los niveles de homocisteína y en consecuencia una disfunción vascular.

La seguridad de una carga o dosis excesivas de metionina ha sido examinada en humanos en estudios epidemiológicos. Aunque existen estudios limitados publicados la conclusión que se mantiene es que, aunque pueden originarse complicaciones transitorias de alteración de la percepción y vigilancia, no se han observado efectos adversos vasculares (Krupkova-Meixnerova et al., 2002). Dosis únicas de metionina de 7 g producen letargia, dosis de 10,5 g náuseas y vómitos (IOM, 2005). Solamente dosis elevadas, pero en administración repetida, pueden ser un factor de riesgo de enfermedad coronaria (IOM, 2005).

También se ha examinado si una ingesta alta de metionina en niños podría estar relacionada con toxicidad, concluyéndose que la hipermetioninemia es el resultado de la ingesta de una formulación con muy alto contenido de metionina, ingesta de metionina en un rango de 125-507 mg/kg/día, frente a una ingesta media de 62-97 mg/kg/día (Harvey et al., 2003). Niños con ingestas de metionina de dos a cinco veces superiores a una ingesta normal presentan efectos sobre el crecimiento y niveles plasmáticos de metionina extremadamente altos, pero sin efectos adversos a largo plazo (Garlick, 2006). Debido a que la metionina es un aminoácido indispensable y puede ser suplementado en la dieta, es apropiado preguntarse si una ingesta dietética de metionina origina un aumento de la concentración de homocisteína y con ello un riesgo cardiovascular. Diversos estudios evidencian que un incremento de homocisteína plasmática solo se observa con ingestas de hasta cinco veces la ingesta normal de metionina. Una ingesta moderada de metionina no conduce a hiperhomocisteinemia y subsiguientemente a un riesgo cardiovascular (Chambers et al., 1999).

Aunque la metionina se considera el aminoácido más tóxico en relación al crecimiento en los animales (Benevenga y Steele, 1984), no existe evidencia que apunte una toxicidad en el hombre, excepto a ingestas de altos niveles de metionina. Una dosis única de 100 mg/kg p.c. ha demostrado ser segura y corresponde con siete veces el requerimiento diario para los aminoácidos sulfuro (metionina+cisteína) (WHO, 2006). Pero si esta dosis de 100 mg/kg p.c. se administra repetidamente durante 7 días, se origina un incremento en los niveles plasmáticos de homocisteína y ha sido usada como un índice de susceptibilidad a enfermedad cardiovascular (McAuley et al., 1999). Suplementos de vitaminas B₆, B₁₂, C y ácido fólico protegen frente a los efectos de la metionina sobre los niveles de homocisteína y la función vascular (Garlick, 2006).

A pesar de que la metionina es un precursor de homocisteína y del papel de la homocisteína en la enfermedad cardiovascular, no existe evidencia de que la ingesta dietética de metionina (L-metionina o N-acetil-L-metionina) dentro de unos límites razonables pueda causar lesión cardiovascular.

No existen datos para caracterizar la relación dosis-respuesta para la L-metionina. Los datos sobre efectos adversos de L-metionina a partir de suplementos dietéticos son considerados insuficientes para una evaluación dosis-respuesta y poder derivar un UL (límite máximo tolerable) para el hombre.

A efectos de evaluación del riesgo, en ausencia de un NOAEL, o de un límite de confianza más bajo de la dosis *benchmark* (BMDL, *Benchmark dose lower bound*), la evaluación podría realizarse con el LOAEL (*Lowest observed adverse effect level*).

El *Norwegian Scientific Committee for Food Safety* (VKM) propone la ingesta de 100 mg/kg p.c. de L-metionina como el nivel más bajo de efecto adverso observable (LOAEL) basado en que en el hombre una ingesta de 100 mg/kg p.c. de L-metionina está asociada con somnolencia, vértigo y descenso o aumento de presión sanguínea (VKM, 2013).

Teniendo en cuenta que el LOAEL recomendado por el *Norwegian Scientific Committee for Food Safety* no queda justificado en un estudio dosis-respuesta, ni conocemos con exactitud la graduación de los efectos adversos detectados, se debería aplicar un factor de incertidumbre de 10 como factor de variación inter-individual del hombre y un factor de incertidumbre de 3 por extrapolar un LOAEL a un NOAEL, más un factor de 1 por no ser el LOAEL establecido en estudios dosis-respuesta, y tendríamos:

$$\text{LOAEL}/40 = 100/40 = 2,5 \text{ mg/kg p.c.}$$

Tomando como peso corporal del hombre 70 kg tendríamos una ingesta máxima recomendada de 175 mg/día.

4.11.5 Conclusión

Tomando como referencia los estudios que establecen un LOAEL de 100 mg/kg, el Comité Científico considera que una cantidad máxima de 2,5 mg/kg/día (175 mg/día para una persona de 70 kg) de N-acetil-L-metionina en adultos es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Baxter, J., Kim, Y. y Snowden, M. (2002). Hydrolysis of N-acetyl-L-glutamine by acylase I. *Journal of Food Science*, 66, pp: 1428-1433.
- Benevenga, N.J. y Steele, R.D. (1984). Adverse effects of excessive consumption of amino acids. *Annual Review of Nutrition*, 4, pp: 157-181.
- 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: 1156-1160.
- Francis, K.T. y Smith, R.C. (1975). *In vitro* metabolism of ethionine, N-acetyl-ethionine and N-acetyl-methionine by rat liver microsomes. *Experientia*, 31, pp: 890-891.
- Garlick, P.J. (2006). Toxicity of methionine in humans. *Journal of Nutrition*, 136 (6), pp: 1722S-1725S.

- Giardina, T., Biagini, A., Dalle Ore, F., Ferre, E., Reynier, M. y Puigserver, A. (1997). The hog intestinal mucosa acylase I: subcellular localization, isolation, kinetic studies and biological function. *Biochimie*, 79, pp: 265-273.
- Harvey, M.S., Braverman, N., Pomper, M., Tezcan, K., Kronick, J., Jayakar, P. et al. (2003). Infantile hypermethioninemia and hyperhomocysteinemia due to high methionine intake: a diagnostic trap. *Molecular Genetics and Metabolism*, 79 (1), pp: 6-16.
- IOM (2005). Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. National Academic Press, 2005, Washington DC.
- Krupkova-Meixnerova, L., Vesela, K., Vitova, A., Janosikova, B., Andel, M. y Kozich, V. (2002). Methionine-loading test: evaluation of adverse effects and safety in an epidemiological study. *Clinical Nutrition*, 21 (2), pp: 151-156.
- Laster, L., Mudd, S.H., Finkelstein, J.D. e Irreverre, F. (1965). Homocystinuria due to cystathionine synthase deficiency: The metabolism of L-methionine. *Journal of Clinical Investigation*, 44 (10), pp: 1708-1719.
- McCully, K.S. (1969). Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *American Journal of Pathology*, 56, pp: 111-128.
- 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. (1985). Vascular disease and homocysteine metabolism. *New England Journal of Medicine*, 313, pp: 751-753.
- Murphy-Chutorian, D.R., Wexman, M.P., Grieco, A.J., Heining, J.A., Glassman, E., Gaull, G.E., Ng, S.K., Feit, F., Wexman, K. y Fox, A.C. (1985). Methionine intolerance: a possible risk factor for coronary artery disease. *Journal of American College of Cardiology*, 6, pp: 725-730.
- Stegink, L.D., Filer, Jr.L.J. y Baker, L. (1980). Plasma methionine levels in normal adult subjects after oral loading with L-methionine and N-acetyl-L-methionine. *Journal of Nutrition*, 110, pp: 42-49.
- VKM (2013). Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Doc. No 12-704 final 11. March 2013.
- WHO (2006). World Health Organization. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. WHO Technical Report Series No. 935, Geneva.

5. Hidroximetilbutirato

5.1 Propuesta

La AECOSAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para el hidroximetilbutirato (HMB) en complementos alimenticios de 3 g. En Italia está autorizado en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria (Italia, 2015). Además, también está autorizado como complemento alimenticio en Bélgica.

5.2 Características y fuentes

El HMB se puede suplementar en forma de una sal de calcio monohidratada (comúnmente referida como HMB cálcico) o como un ácido libre (HMB propiamente). Al comparar el ácido libre versus la sal de calcio (a niveles equivalentes de ácido libre de 0,8 g frente a 1 g de HMB cálcico), se ha observado que se alcanza una concentración plasmática máxima (C_{max}) más alta con el ácido libre (en un 76-97 %) en un tiempo (T_{max}) más corto (30 minutos); el área bajo la curva (AUC) también se incrementa en un 91-97 % (Fuller et al., 2011). En conclusión, HMB en forma ácido libre mejora la biodisponibilidad del HMB.

5.3 Nutrición y metabolismo

El HMB es un metabolito de origen natural del aminoácido leucina: la leucina se convierte en su análogo ceto (ceto isocaproato o CIC) y luego se convierte en HMB (a través de la enzima citosólica CIC dioxigenasa) (Sabourin y Bieber, 1983) (Van Koevering y Nissen, 1992). Cabe señalar que la versión mitocondrial de la CIC dioxigenasa convierte CIC en el derivado CoA del ácido isovalérico (β -hidroxiisovalerato) (Sabourin y Bieber, 1983). Todo el HMB endógeno deriva de la leucina (Van Koevering y Nissen, 1992), y la producción de HMB se correlaciona con la ingesta de leucina en la dieta (siguiendo una cinética de primer orden por parte de la CIC dioxigenasa citosólica) (Sabourin y Bieber, 1983) (Nissen et al., 1996) con cerca de un 5 % del total de leucina oxidada *in vivo* transformándose en HMB (Van Koevering y Nissen, 1992). A pesar de que la concentración plasmática de HMB es de 1-4 μ M, puede aumentar 5-10 veces después de una comida rica en leucina (Nissen et al., 1996).

5.4 Seguridad

Las pruebas toxicológicas indican que el nivel sin efecto adverso observado (NOAEL; la mayor dosis no asociada con signos tóxicos) para HMB en experimentos de ingestión oral en ratas es de 3 490 mg/kg para las ratas macho y 4 160 mg/kg para las ratas hembras (Baxter et al., 2005). Esto supone un equivalente estimado en humanos de 558 mg/kg y 665 mg/kg, respectivamente (CDER, 2005). Suponiendo un peso corporal de 70 kg equivale a 39 g (hombres) y 46 g (mujeres). Otras pruebas de toxicología con cerdos muestran que dosis de aproximadamente 5 g/kg en cerdos de más de 4 días no lograron alterar ningún parámetro bioquímico o peso de los órganos (Wilson et al., 2013).

Estudios toxicológicos en humanos señalan que aproximadamente 6 g de HMB diariamente (76 mg/kg/día) durante 8 semanas en hombres jóvenes no entrenados sometidos a ejercicio no mostró ningún efecto adverso sobre parámetros hematológicos, enzimas hepáticas y perfil lipídico así como también sobre la función renal (Gallagher et al., 2000). Además, 3 g de HMB diariamente durante un máximo de 8 semanas en jóvenes y personas de edad avanzada tampoco alteraron parámetros hematológicos en suero (Nissen et al., 2000). Esta dosis también resultó segura durante 1 año de administración (Baier et al., 2009). En general, esta dosis estándar de HMB parece ser bien tolerada durante largos períodos de tiempo (de acuerdo con estudios de metanálisis) (Rathmacher et al., 2004).

5.5 Conclusión

La forma de ácido libre se absorbe mejor que la forma cálcica, y alcanza un nivel máximo en suero más rápidamente que la sal de calcio de hidroximetilbutirato.

Hay que tener en cuenta que el hidroximetilbutirato es un metabolito de la leucina dietética en nuestro organismo y es mediador en una variedad de efectos de la leucina. Aproximadamente el 5 % de leucina en la dieta se convierte en hidroximetilbutirato en el organismo.

La suplementación con hidroximetilbutirato con hasta 3 g diarios ha demostrado ser muy bien tolerada. Se sospecha, además, que dosis más altas son igualmente seguras (pero hay menos pruebas en humanos).

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

Referencias

- Baier, S., Johannsen, D., Abumrad, N., Rathmacher, J.A., Nissen, S. y Flakoll, P. (2009). Year-long changes in protein metabolism in elderly men and women supplemented with a nutrition cocktail of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB), L-arginine, and L-lysine. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 33 (1), pp: 71-82.
- Baxter, J.H., Carlos, J.L., Thurmond, J., Rehani, R.N., Bultman, J. y Frost, D. (2005). Dietary toxicity of calcium beta-hydroxy-beta-methyl butyrate (CaHMB). *Food and Chemical Toxicology*, 43 (12), pp: 1731-1741.
- CDER 2005). Center for Drug Evaluation and Research. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM078932.pdf> [acceso: 26-03-15].
- Fuller, J.C., Rathmacher, J.A., Baier, S.M., Abumrad, N.N., Angus, H.F. y Shar, R.L. (2011). Free acid gel form of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) improves HMB clearance from plasma in human subjects compared with the calcium HMB salt. *British Journal of Nutrition*, 105 (3), pp: 367-72.
- Gallagher, P.M., Carrithers, J.A., Godard, M.P., Schulze, K.E. y Trappe, S.W. (2000). Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate ingestion, part II: effects on hematology, hepatic and renal function. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32 (12), pp: 2116-2119.
- Italia (2015). 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: 27-09-15].
- Nissen, S., Sharp, R., Ray, M., Rathmacher, J.A., Rice, D., Fuller, J.C.Jr., Connelly, A.S. y Abumrad, N. (1996). Effect of leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. *The Journal of Applied Physiology*, 81 (5), pp: 2095-2104.
- Nissen, S., Sharp, R.L., Panton, L., Vukovich, M., Trappe, S. y Fuller, J.C. (2000). Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *Journal of Nutrition*, 130 (8), pp: 1937-1945.
- Rathmacher, J.A., Nissen, S., Panton, L., Clark, R.H., Eubanks May, P., Barber, A.E., D'Olimpio, J. y Abumrad, N.N. (2004) Supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB), arginine, and glutamine is safe and could improve hematological parameters. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 28 (2), pp: 65-75.
- Sabourin, P.J. y Bieber, L.L. (1983). Formation of beta-hydroxyisovalerate by an alpha-ketoisocaproate oxygenase in human liver. *Metabolism*, 32 (2), pp: 160-164.
- Van Koevering, M. y Nissen, S. (1992). Oxidation of leucine and alpha-ketoisocaproate to beta-hydroxy-beta-methylbutyrate in vivo. *The American Journal of Physiology*, 262 (1), pp: E27-31.
- Wilson, J.M., Fitschen, P.J., Campbell, B., Wilson, G.J., Zanchi, N., Taylor, L., Wilborn, C., Kalman, D.S., Stout, J.R., Hoffman, J.R., Ziegenfuss, T.N., López, H.L., Kreider, R.B., Smith-Ryan, A.E. y Antonio, J. (2013). International Society of Sports Nutrition Position Stand: beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 10, pp: 6.

6. Ácido lipoico

6.1 Propuesta

La AECOSAN ha propuesto la inclusión del ácido lipoico en el Real Decreto 1487/2009 sin especificar una cantidad máxima diaria. La solicitud se basa en que está autorizado en Italia sin haberse establecido una cantidad máxima diaria y con la advertencia de que si se está en tratamiento con medicamentos hipoglucemiantes se debe consultar al médico antes de su eventual uso (Italia, 2015). En Bélgica también está autorizado en complementos alimenticios sin haberse establecido una cantidad máxima diaria.

6.2 Características y fuentes

El ácido lipoico es un compuesto natural, presente tanto en el organismo como en algunos alimentos.

Químicamente el ácido alfa lipoico (ácido 1,2-ditioano-3-pentanoico), también conocido como ácido tíoctico, es un ácido graso no esencial con una estructura bien definida que contiene dos átomos de azufre y un centro quiral, dando lugar a las formas enantioméricas R y S, tal y como muestra la figura 15:

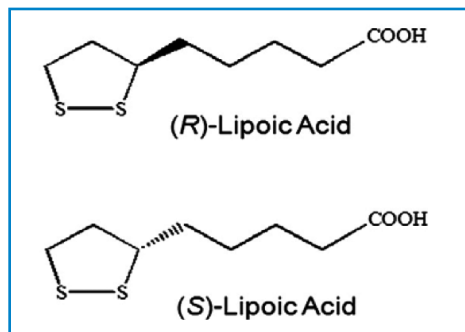


Figura 15. Estructura química del ácido lipoico con sus dos formas enantioméricas. **Fuente:** (Shay et al., 2009).

En los alimentos se presenta unido a proteínas (lipolisina) a concentraciones bajas de 0.3 mg/100 g en las fuentes naturales más ricas de origen vegetal (como espinacas) o animal (riñones). Otras fuentes son: el brócoli, la col verde, la lechuga y la acelga, y vísceras como corazón e hígado. La lipolisina también se ha encontrado en tomates, guisantes y coles de Bruselas.

El compuesto natural es la forma R mientras que en los suplementos alimenticios abunda la mezcla racémica R/S. Se presenta en equilibrio redox, la forma oxidada es un ciclo cerrado que tiene un enlace disulfuro y la forma reducida es un anillo abierto que contiene dos grupos tiol (ácido dihidrolipoico).

Se ha de destacar que el arsénico trivalente es capaz de reaccionar con el ácido lipoico. En la descarboxilación del ácido pirúvico, el arsénico trivalente, que actuaría como tóxico, es capaz de inhibir el ácido lipoico que es responsable de la transformación del piruvato en AcetilCoA. El ácido lipoico es una especie tíolica y esta característica química es aprovechada por el arsénico trivalente para reaccionar con el mismo (Figura 16).

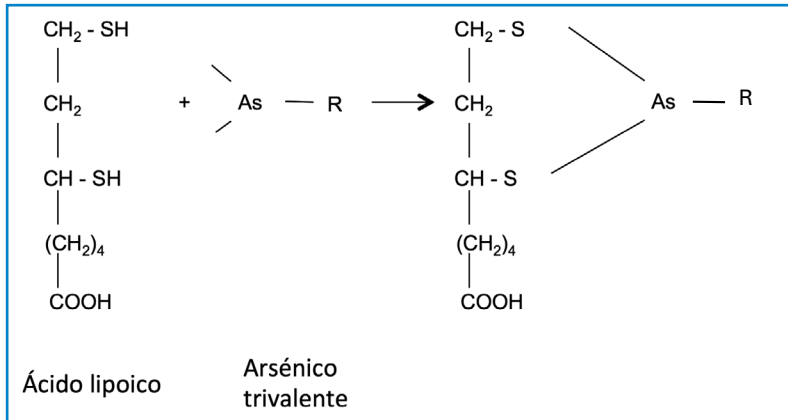


Figura 16. Reacción entre el ácido lipoico y el arsénico.

6.3 Nutrición y metabolismo

El ácido lipoico se sintetiza en el hígado, corazón y riñones (Ghibu et al., 2008), en particular en las mitocondrias mediante síntesis enzimática a partir del ácido octanoico participando de manera importante en el metabolismo energético de las mismas.

A pesar de que la síntesis de novo parece aportar la cantidad de ácido lipoico necesaria para su función en el metabolismo, también puede absorberse a partir de la dieta. De hecho el ácido lipoico se absorbe intacto a partir de las fuentes dietéticas antes citadas y se acumula de forma transitoria en diversos tejidos (hígado, corazón y músculo esquelético). Diversos estudios muestran que la biodisponibilidad depende de varios factores, si se ingiere en forma de ácido o de sal, con una comida o solo, etc. (Shay et al., 2009).

Además las células disponen de sistemas para transportar, utilizar y excretar el ácido lipoico libre (no unido a proteínas). Su transporte depende del valor de pH, acelerándose en pH ácido. Es precisamente durante el transporte, cuando tiene lugar aparentemente la conversión del ácido lipoico en dihidrolipoico, más oxidante (Takaishi et al., 2007) y que también puede ser excretado.

El destino metabólico más común para el ácido lipoico *in vivo* es la β -oxidación, siendo los principales metabolitos: el bisnorlipoato, tetranorlipoato, β -hidroxi-bisnorlipoato, o los bis-metilados mercapto-derivados (Figura 17).

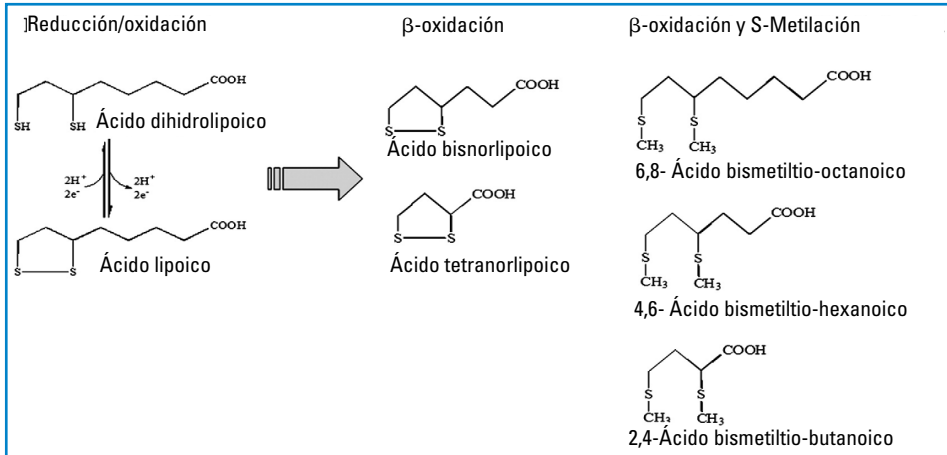


Figura 17. Metabolismo del ácido lipoico. **Fuente:** (Shay et al., 2009).

En relación a su función, su rol como cofactor está bien estudiado. Sólo se conjuga la forma R del ácido lipoico con el fin de conservar los residuos de lisina en un enlace amida, haciendo por tanto esta isoforma esencial como cofactor en los sistemas biológicos, en particular como cofactor esencial de las enzimas deshidrogenasas, principalmente de la piruvato deshidrogenasa y de la deshidrogenasa de cetoácidos de cadena ramificada (subunidad E2 de la PDH y de la KADH), y de complejo de deshidrogenasas 2-oxoglutarato (Shay et al., 2009).

Tanto el ácido lipoico como el dihidrolipoico se le han atribuido tener propiedades antioxidantes y al dihidrolipoico también propiedades prooxidantes en sistemas en los que se genera radical hidroxilo (Ghibu et al., 2008, 2009).

6.4 Seguridad

Estudios de toxicidad subcrónica en ratas, fijan un NOAEL de 60 mg/kg/día (Cremer et al., 2006). Si consideramos un NOAEL medio de 60 mg/kg/día y usamos como factor de incertidumbre 100, la IDA será de 0,6 mg/kg/día. Lo que, para una persona de 70 kg, permitiría una ingestión diaria de 42 mg de ácido lipoico.

La dosis más usada es la de 600 mg/día y es la aprobada en Japón y Alemania para la neuropatía diabética. En ese país se indica para algunas patologías desde hace más de 50 años. La dosis máxima utilizada es de 2 400 mg/día en ensayos clínicos y no se notificaron efectos adversos. Tampoco con dosis de 1 800 mg/día durante 6 meses (Costantino et al., 2014).

Sin embargo, no hay estudios suficientes que prueben su seguridad en niños, embarazadas o mujeres en periodo de lactancia, tampoco en personas con diabetes, patologías renales o hepáticas, por lo que por precaución y seguridad no se aconseja su administración en estas situaciones.

6.5 Conclusión

El Comité Científico concluye que la información toxicológica sobre el ácido lipoico es limitada. Existen ensayos clínicos en población adulta sana (excluyendo a mujeres embarazadas y en periodo de lactancia) en los que no se han notificado efectos adversos con dosis de entre 1 800 y 2 400 mg/día en periodos de tiempo inferiores a 6 meses. Además, tomando como referencia los estudios de toxicidad subcrónica en ratas que fijan un NOAEL medio de 60 mg/kg/día, 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, una cantidad máxima de 0,6 mg/kg/día (42 mg/día para una persona de 70 kg) de ácido lipoico en adultos es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Cremer, D.R., Rabeler, R., Roberts, A. y Lynch, B. (2006). Long-term safety of alpha-lipoic acid (ALA) consumption: A 2-year study. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 46 (3), pp: 193-201.
- Costantino, M., Guaraldi, C., Costantino, D., De Grazia, S. y Unfer, V. (2014). Peripheral neuropathy in obstetrics: efficacy and safety of α -lipoic acid supplementation. *European review for medical and pharmacological sciences*, 18 (18), pp: 2766-2771.
- Guibu, S., Richard, C., Delemasure, S., Vergely, C., Mogosan, C. y Muresan, A. (2008). An endogenous dithiol with antioxidant properties: alpha-lipoic acid, potential uses in cardiovascular diseases. *Annales de Cardiologie et de Angéiologie*, 57 (3), pp: 161-165.
- Ghibu, S., Richard, C., Vergely, C., Zeller, M., Cottin, Y. y Rochette L. (2009). Antioxidant properties of an endogenous thiol: Alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 54 (5), pp: 391-398.
- Italia (2015). 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: 27-09-15].
- Shay, K.P., Moreau, R.F., Smith, E.J., Smith, A.R. y Hagen, T.M. (2009). Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790 (10), pp: 1149-1160.
- Takaishi, N., Yoshida, K., Satsu, H. y Shimizu, M. (2007). Transepithelial transport of alpha-lipoic acid across human intestinal Caco-2 cell monolayers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, pp: 5253-5259.

7. *Monascus purpureus*

7.1 Propuesta

La AECOSAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para *Monascus purpureus* condicionada a un aporte máximo de 10 mg de monacolínes expresadas como monacolína K.

Esta propuesta se basa en la existencia de una declaración de propiedad saludable aprobada por EFSA respecto a que “la monacolína K del arroz de levadura roja contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo”. Esta declaración solo puede utilizarse respecto a alimentos que aporten una ingesta diaria de 10 mg de monacolína K del arroz de levadura roja.

Para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene con una ingesta diaria de 10 mg de monacolína K procedente de preparados fermentados de arroz de levadura roja (EFSA, 2011) (UE, 2012).

7.2 Características y fuentes

La levadura roja comercial utilizada como complemento en fitoterapia se obtiene por fermentación de arroz con una mezcla de hongos del género *Monascus*, como *M. purpureus* Went (Monascaeae) y otros, que se utilizan para obtener vino de arroz. El compuesto activo principal de la levadura roja es la monacolina K, principio activo que ha sido comercializado con el nombre genérico de lovastatina. También lo producen otros hongos como *Aspergillus terreus* o *Pleurotus ostreatus*.

7.3 Nutrición y metabolismo

La monacolina K inhibe la 3-hidroxi-metil-glutaril (HMG)-CoA reductasa, enzima limitante en la biosíntesis endógena del colesterol. La monacolina K es un profármaco derivado del hexahidronaftaleno β -hidroxi- δ -lactona, que se hidroliza a ácido mevinolínico, de estructura similar a la HMG-CoA. La monacolina K se une a la HMG reductasa, bloqueando la conversión de HMG-CoA a ácido mevalónico y la subsiguiente síntesis de colesterol (Castillo y Martínez, 2007).

El compuesto inactivo se administra vía oral, se absorbe irregularmente (31 %), transformándose en los hidroxiácidos activos en mucosa intestinal e hígado. Es metabolizada por la isozima del citocromo P-450 CYP3A4, lo cual puede dar lugar a interacciones importantes (Flórez et al., 2014).

Su biodisponibilidad es muy baja (<5 %) debido a una absorción deficiente y a un metabolismo hepático de primer paso. La unión a proteínas plasmáticas es alta (95 %), y pasa las barreras hematoencefálica y placentaria. La concentración máxima en plasma se alcanza aproximadamente a las 2 horas, siendo la semivida en plasma de 2,5 a 3 horas. Se elimina por heces y orina (Flórez et al., 2014).

La dosis recomendada para la levadura roja son dos cápsulas dos veces al día. Como las cápsulas suelen contener 600 mg de una mezcla estandarizada de levadura y arroz, con un contenido de 2,4 mg de monacolina K, la dosis recomendada es 4,8 mg \times 2 dosis, es decir, 9,6 mg/día en dos tomas (Bratman y Girman, 2003).

7.4 Seguridad

Las mujeres embarazadas no deben tomar levadura roja, ni tampoco durante el periodo de lactancia, al igual que los niños menores de 12 años. Los enfermos con insuficiencia hepática o renal deben tomarla con precaución (SEFIT, 2015).

La tolerabilidad de la monacolina K, al igual que el resto de las estatinas es alta. Un porcentaje significativo (7-29 %) de pacientes tratados con estatinas presenta molestias musculares (mialgias, contracturas y pérdida de fuerza), con concentraciones séricas de enzimas musculares (por ejemplo, creatinfosfocinasa) normales o elevadas. Porcentajes menores presentan fatiga, elevación de enzimas hepáticos, neuropatía periférica, insomnio, alteraciones neurocognitivas e incluso diabetes mellitus (Stroes et al., 2015). Un reducido porcentaje de pacientes pueden presentar una miopatía inflamatoria grave inmuno-mediada. La incidencia de estos efectos se relaciona con la dosis de estatina (generalmente más de 20 mg de lovastatina o equivalente), el tipo de estatina, asociación a otros fármacos hipolipemiantes (por ejemplo, gemfibrozilo), edad, y género, entre otros factores condicionantes (Osakidetza, 2008) (Stroes et al., 2015).

Respecto a la levadura roja en el documento de consenso de la Sociedad Europea de Arteriosclerosis se considera a este producto como efectivo y bien tolerado (Stroes et al., 2015). Un meta-análisis que incluyó 13 ensayos clínicos concluyó que la levadura roja de arroz es un producto relativamente seguro como tratamiento de las dislipidemias (Li et al., 2014). No se observaron diferencias entre las cifras de creatinofosfocinasa sérica, ni tampoco en las de glucemia entre los grupos de tratamiento y los que recibieron el placebo. Aunque el tiempo de intervención de estos estudios fue relativamente prolongado (entre 4 semanas y 6 meses), las dosis equivalentes de lovastatina fueron bajas, menos de 10 mg en todos los estudios, excepto uno (Huang et al., 2007). Asimismo, se ha observado que podría ser un tratamiento efectivo y bien tolerado en pacientes que han presentado intolerancia a las estatinas (principalmente mialgias), ya que sólo un 5 % de los pacientes tratados refirieron mialgias (Osakidetza, 2008) (Halbert et al., 2010).

Por todo ello, aunque a las dosis establecidas los efectos indeseables no parecen ser relevantes, sería preciso realizar ensayos clínicos con dosis equivalentes a 10 mg/día de lovastatina durante un periodo prolongado de tiempo (1-2 años). A falta de estos estudios, se recomienda realizar un seguimiento en caso de dolor muscular. También se debe evitar el consumo de este producto con uva, ya que su nivel sérico podría aumentar 5-20 veces. Puede interactuar con inmunosupresores, antifúngicos y antibióticos (Harkness y Bratman, 2003). Debido a que los inhibidores de la HMG-CoA reductasa reducen también la síntesis de coenzima Q10, se recomienda una suplementación con CoQ10 si el consumo se realiza a largo plazo.

7.5 Conclusión

No existe una correlación directa entre la administración de monacolina K a la dosis de 10 mg y posibles efectos indeseables. Por ello, el Comité Científico concluye que la propuesta de la AECOSAN de una cantidad máxima diaria para *Monascus purpureus* condicionada a un aporte máximo de 10 mg de monacolinas expresadas como monacolina k es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Dado que monacolina K es un medicamento usado a dosis estándar de 20 y 40 mg, y que en algunos casos se aconseja la dosis inicial de 10 mg (Naci et al., 2013) (IQB, 2015), las mujeres embarazadas no deben tomar levadura roja, ni tampoco durante el periodo de lactancia, al igual que los niños menores de 12 años (Osakidetza, 2008). Los enfermos con insuficiencia hepática o renal deben tomarla con precaución y previa consulta médica.

Referencias

- Bratman, S. y Girman, A.M. (2003). En libro: *Mosby's Handbook of Herbs and Supplements, and their Therapeutic Uses*. Mosby Health Gate: St. Louis. pp: 848-851.
- Castillo, E. y Martínez, I. (2007). En libro: *Manual de Fitoterapia*. Elsevier-Masson. Barcelona. pp: 152.
- EFSA (2011). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to monacolin K from red yeast rice and maintenance of normal blood LDL cholesterol concentrations (ID 1648, 1700) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 9 (7), pp: 2304.
- Flórez, J., Armijo, J.A. y Mediavilla, A. (2014). En libro: *Farmacología Humana*, 6ª ed., Elsevier-Masson, Barcelona. pp: 864-878.

- Halbert, S.C., French, B., Gordon, R.Y., Farrar, J.T., Schmitz, K., Morris, P.B., Thompson, P.D., Rader, D.J. y Becker, D.J. (2010). Tolerability of red yeast rice (2,400 mg twice daily) versus pravastatin (20 mg twice daily) in patients with previous statin intolerance. *American Journal of Cardiology*, 105, pp: 198-204.
- Harkness, R. y Bratman, S. (2003). En libro: *Mosby's Handbook of Drug-Herb and Drug-Supplement Interactions*. Mosby Health Gate: St. Louis. pp: 237-238.
- Huang, C.F., Li, T.C., Lin, C.C., Shih, H.C. y Lai, M.M. (2007). Efficacy of *Monascus purpureus* Went rice on lowering lipid ratios in hypercholesterolemic patients. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, 14, pp: 438-440.
- IQB (2015). Instituto Químico Biológico. Medciclopedia. Monografías: Lovastatina. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/1032.htm>. [acceso: 11-06-15].
- Li, Y., Jiang, L., Jia, Z., Xin, W., Yang, S., Yang, Q. y Wang, L. (2014). A meta-analysis of red yeast rice: an effective and relatively safe alternative approach for dyslipidemia. *PLoS One*, 9, pp: e98611.
- Naci, H., Brugts, J.J., Fleurence, R. y Ades, A.E. (2013). Dose-comparative effects of different statins on serum lipid levels: a network meta-analysis of 256,827 individuals in 181 randomized controlled trials. *The European Journal of Preventive Cardiology*, 20, pp: 658-670.
- Osakidetza (2008). Guía de práctica clínica sobre el manejo de los lípidos como factor de riesgo cardiovascular. Osakidetza y Departamento de Sanidad: Vitoria. pp: 124-126, 184-252.
- SEFIT (2015). Sociedad Española de Fitoterapia. Disponible en: <http://www.fitoterapia.net/> [acceso: 11-06-15].
- Stroes, E.S., Thompson, P.D., Corsini, A., Vladutiu, G.D., Raal, F.J., Ray, K.K., Roden, M., Stein, E., Tokgözoğlu, L., Nordestgaard, B.G., Bruckert, E., De Backer, G., Krauss, R.M., Laufs, U., Santos, R.D., Hegele, R.A., Hovingh, G.K., Leiter, L.A., Mach, F., März, W., Newman, C.B., Wiklund, O., Jacobson, T.A., Catapano, A.L., Chapman, M.J. y Ginsberg, H.N. (2015). Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy-European Atherosclerosis Society Consensus Panel Statement on Assessment, Aetiology and Management. *European Heart Journal*, 36, pp: 1012-1022.
- 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.

8. Carbón activo

8.1 Propuesta

La AECOSAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para el carbón activo de 2 g.

Esta propuesta se basa en la autorización de una declaración de propiedad saludable en relación a que el carbón activo contribuye a reducir una flatulencia excesiva después de comer. Esta declaración solo puede utilizarse con alimentos que contengan 1 g de carbón activo por porción cuantificada. Para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene tomando 1 g de carbón activo por lo menos 30 minutos antes de la comida y otro gramo poco después de la comida (UE, 2012).

8.2 Características y fuentes

El carbón activo es un material inerte compuesto por carbono organizado en forma microcristalina que ha sufrido un proceso de activación dando lugar a una red densa con poros cuyos diámetros varían entre 10 y 2 000 Å (Marín, 2003). Gracias a esta disposición el carbón presenta una elevada

superficie de adsorción del orden de 300 a 2 000 m²/g (TAP, 2002) utilizándose por ello para adsorber gases y vapores de una mezcla de gases y disolver y dispersar sustancias presentes en líquidos.

Las fuentes para preparar carbón activo son numerosas y la activación puede llevarse a cabo por distintos mecanismos. Entre las fuentes de carbón activo se encuentran los huesos de animales, carne, sangre, madera dura o blanda, cáscaras de frutos, cereal, fibras vegetales, lignina, residuos procedentes de las refinerías y carbón, entre otros.

Las fuentes de carbono se tratan para obtener el carbón activado siguiendo una amplia variedad de métodos, distinguiéndose dos etapas: carbonización seguida de oxidación. En la activación se puede incluir el uso de ácidos sintéticos, bases u otras sustancias en una corriente de gases como nitrógeno, o dióxido de carbono. La calidad y el rendimiento puede mejorarse eliminando la humedad (FAO, 1985). También puede utilizarse microondas o resinas intercambiadoras de iones (FCC, 1996).

Una vez fabricado el carbón activo, se procede a su caracterización en función de su área de superficie y distribución de poro. El *Food Chemical Codex* fijó en 1996 especificaciones para el carbón activo de grado alimentario (FCC, 1996).

EFSA publicó en 2013 una opinión en relación al uso del carbón activo para su uso en contacto con los alimentos, donde concluye que el carbón activo deberá cumplir con los mismos requisitos de pureza que para el colorante Carbón Vegetal (E-153) establecidos por la Directiva 95/45/CE, con excepción del contenido de cenizas, que puede ser hasta un 10 % (p/p) (EFSA, 2013).

En relación a sus acciones, se diferencian cuatro tipos: adsorción, filtración mecánica, intercambio de iones y oxidación superficial.

8.3 Nutrición y metabolismo

El carbón activo se considera inerte desde el punto de vista nutricional, por lo que cabe esperar que no sea absorbido por el organismo.

Por otro lado, hay que tener en cuenta el gran poder absorbente del carbón activo, lo que motiva sus dos aplicaciones conocidas, su uso para combatir la aerofagia, meteorismo y flatulencia, y su empleo para tratar intoxicaciones, por su capacidad de adsorción de las sustancias tóxicas. Esta misma característica, hace desaconsejable su uso prolongado por su posible interferencia en la adsorción de algunos nutrientes.

8.4 Seguridad

Desde el punto de vista de la seguridad del uso del carbón activo, no se han encontrado estudios toxicológicos del producto que permitan la evaluación científica rigurosa de este aspecto.

Sin embargo, sí que se conoce su uso como medicamento para tratar los mismos síntomas para los que se consideraría eficaz su uso como complemento. En el caso del uso como medicamento, en la ficha técnica del mismo se indica que puede perjudicar a la motilidad intestinal. También se indica que “la investigación preclínica no ha revelado efectos tóxicos del principio activo”, sin embargo, esa investigación preclínica no es pública.

Por otro lado, desde el punto de vista de la seguridad sería necesario conocer el tamaño de

partícula del complemento alimentario, prestando especial atención a la posible presencia de nanopartículas.

8.5 Conclusión

El Comité Científico considera que la información toxicológica disponible es insuficiente para determinar cuál sería la cantidad máxima diaria de carbón activo que se podría considerar segura en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- FAO (1985). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Industrial charcoal making. FAO forestry paper 63. Mechanical Wood Products Branch. Forest Industries Division. FAO Forestry Department. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 1985.
- FCC (1996). Food Chemicals Codex Committee. En libro: *Food Chemicals Codex (4th ed.)*. Washington: National Academy.
- EFSA (2013). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the safety evaluation of the active substances iron, sodium chloride, water, silica gel, activated carbon, monosodium glutamate, potassium acid tartrate, powdered cellulose, malic acid, chabazite, hydroxypropyl cellulose, potassium carbonate, sodium thiosulfate, propylene glycol, glycerin, polyethyleneglycol sorbitan monooleate, sodium propionate and clinoptilolite for use in food contact materials. *The EFSA Journal*, 11 (4), pp: 3155.
- Marín, R. (2003). En libro: *Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos. Tratamiento y control de calidad de aguas*. Díaz de Santos S.A. Madrid.
- TAP (2002). Technical Advisory Panel. Activated carbon processing. National Organic Standards Board Technical Advisory Panel Review. Disponible en: <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STEL-PRDC5066960> [acceso: 8-02-15].
- 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 16 de mayo de 2012, pp: 1-40.

9. Lactulosa

9.1 Propuesta

La AECOSAN ha propuesto una cantidad máxima diaria para la lactulosa de 10 g.

Esta propuesta se basa en la autorización de una declaración de propiedad saludable en relación a que la lactulosa contribuye a la aceleración del tránsito intestinal. Esta declaración sólo puede utilizarse respecto a alimentos que contengan 10 g de lactulosa por porción cuantificada. Para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene a partir del consumo de 10 g de lactulosa en una única ingesta (EFSA, 2010) (UE, 2012).

En cuanto a su historia de consumo como complemento alimenticio, la lactulosa tiene esta consideración en Bélgica y en Italia.

En otros países de la Unión Europea como Eslovenia, Reino Unido, Suecia y República Checa tiene un uso medicinal.

En España en este momento está considerada como un medicamento según la Agencia Española del Medicamentos y Productos Sanitarios. En las fichas técnicas de diferentes medicamentos, en todos los casos se recomiendan dosis diarias entre 10 y 20 g en una o dos tomas, llegando a 30 g/día en casos de encefalopatía hepática.

9.2 Características y fuentes

La lactulosa es un disacárido de fórmula 4-O-β-D-Galactopiranosil-β-D-fructofuranosa (EFSA, 2010).

Este hidrato de carbono no digerible, no se encuentra como tal presente en la naturaleza, aunque se puede obtener por isomerización alcalina de lactosa o por la síntesis catalizada enzimáticamente (Illanes, 2011).

En referencia a sus usos, al ser más dulce y más soluble que la lactosa, tiene aplicaciones en la repostería. Tradicionalmente se ha usado como laxante, en casos crónicos y agudos, y en el tratamiento de la hiperamonemia y la encefalopatía crónica hepática. Además se han publicado estudios en los que se muestra que su administración aumenta la proporción de bacterias que promueven la salud en el tracto gastrointestinal, tales como bifidobacterias y lactobacilos y en estudios con animales disminuye la presencia de bacterias patógenas tales como *Salmonella* (Schuster-Wolff-Bühning et al., 2010) (Bouhnik et al., 2014).

9.3 Nutrición y metabolismo

La absorción de la lactulosa en el tracto gastrointestinal es muy baja y en el hombre no es digerible debido a la falta de enzimas que puedan hidrolizarla. Debido a esto las dosis orales de solución de lactulosa llegan al colon prácticamente sin cambios. Allí se descompone por la acción de las bacterias del colon principalmente a ácido láctico y también en menor medida en ácido fórmico y acético, lo que resulta en un aumento de la presión osmótica y ligera acidificación del contenido del colon. Esto a su vez provoca un aumento en el contenido de agua de las heces y ablandamiento de las mismas.

9.4 Seguridad

La ficha de esta especialidad de la Agencia Española del Medicamentos y Productos Sanitarios, describe que “Los datos de los estudios preclínicos no muestran riesgos especiales para los seres humanos, según estudios de toxicidad de dosis única y dosis repetidas”.

Estudios en animales de laboratorio (ratón y conejo) mostraron que la lactulosa no tiene efecto teratogénico, ni adversos para la reproducción (Baglioni y Dubini, 1976). Se absorbe pobremente por el intestino en adultos (0,2-2,8 %) (Hallmann, 2000), en lactantes (menos de 1,7 %) (Dmitriev, 1997) y niños (menos del 1 %) (Miki et al., 1996), no se puede hidrolizar por los enzimas humanos y es convertida en diversos ácidos orgánicos de cadena corta principalmente por bacterias en el intestino.

La lactulosa se incluye entre los denominados laxantes osmóticos (Hallmann, 2000). En individuos sanos no se han descrito efectos adversos serios, solamente síntomas gastrointestinales menores, como hinchazón, gas, dolor de estómago, diarrea, náuseas o incluso dolor de cabeza (Gordon et

al., 2013) producto de una intolerancia que no depende de la reducción de la dosis (Als-Nielsen et al., 2004).

Por todo ello, su administración empeora las diarreas y los especialistas recomiendan que se evite en el caso de enfermedades intestinales inflamatorias crónicas por su efecto osmótico y la disminución del tiempo de tránsito. Sin embargo, dado su efecto menor se sigue utilizando en estudios de permeabilidad en estos enfermos (Van Citters y Lin, 2005), incluso la administración de 25 g de lactulosa se ha propuesto para el diagnóstico inequívoco de colon irritable (Le Neve et al., 2013).

Entre las mayores cantidades administradas que se han descrito, encontramos dos metanálisis en los que estudió su efecto frente a la encefalopatía hepática. En ellos se administraban de 30 a 120 y de 20 a 80 g diarios, respectivamente. En ninguno de los estudios se detectaron efectos adversos serios asociados a su ingesta, sólo ciertas reacciones gastrointestinales y un caso de alergia (Als-Nielsen et al., 2004) (Luo et al., 2011).

Estos datos sugieren que la ingesta diaria de hasta 10 g de lactulosa solo tendría un riesgo menor.

9.5 Conclusión

Los estudios de toxicidad realizados indican que la ingesta diaria de hasta 10 g de lactulosa solo tendría un riesgo menor en ciertos individuos con especial sensibilidad.

Por ello, 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 AECOSAN de una cantidad máxima diaria de lactulosa de 10 g en complementos alimenticios es aceptable desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complemento alimenticio.

Referencias

- Als-Nielsen, B., Gluud, LL. y Gluud, C. (2004). Non-absorbable disaccharides for hepatic encephalopathy: systematic review of randomised trials. *British Medical Journal*, 328, pp: 1046.
- Baglioni, A. y Dubini, F. (1976). Lattulosio: valutazione tossicologica. *Bollettino chimico farmaceutico*, 115 (8), pp: 596-606.
- Bouhnik, Y., Attar, A., Joly, F.A., Riottot, M., Dyard, F. y Flourie, B. (2004). Lactulose ingestion increases faecal bifidobacterial counts: A randomised double-blind study in healthy humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58, pp: 462-466.
- Dmitriev, A., Gmoshinski, I., Mazo, V., Dmitrieva, N., Uzbekova, D., Chugunova, L. y Mirgorodskaya, L. (1997). Intestinal permeability to alpha-lactalbumine of breast milk and lactulose in infants. *Gut*, 41, pp: 1.
- EFSA (2010). European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to lactulose and decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 806) and reduction in intestinal transit time (ID 807) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*, 8 (10), pp: 1806.
- Gordon, M., Naidoo, K., Akobeng, A.K. y Thomas, A.G. (2013). Cochrane Review: Osmotic and stimulant laxatives for the management of childhood constipation (Review). *Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal*, 8, pp: 57-109.
- Hallmann, F. (2000). Toxicity of commonly used laxatives. *Medical Science Monitor*, 6, pp: 618-628.
- Illanes, A. (2011). Whey upgrading by enzyme biocatalysis. *Electronic Journal of Biotechnology*, 14 (6).

- Le Neve, B., Posserud, I., Bohn, L., Guyonnet, D., Rondeau, P., Tillisch, K., Naliboff, B., Mayer, E.A. y Simren, M. (2013). A Combined Nutrient and Lactulose Challenge Test allows symptom-based clustering of patients with irritable bowel syndrome. *American Journal of Gastroenterology*, 108, pp: 786-795.
- Luo, M., Li, L., Lu, C.Z. y Cao, W.K. (2011). Clinical efficacy and safety of lactulose for minimal hepatic encephalopathy: a meta-analysis. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 23, pp:1250-1257.
- Miki, K., Butler, R., Moore, D. y Davidson, G. (1996). Rapid and simultaneous quantification of rhamnose, mannitol, and lactulose in urine by HPLC for estimating intestinal permeability in pediatric practice. *Clinical Chemistry*, 42, pp: 71-75.
- Schuster-Wolff-Buhring, R., Fischer, L. y Hinrichs, J. (2010). Production and physiological action of the disaccharide lactulose. *International Dairy Journal*, 20, pp: 731-741.
- UE (2012). Reglamento (UE) N° 432/2012 por el que se establece una lista de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo. DO L 136 de 25 de mayo de 2012, pp: 1-40.
- Van Citters, G. y Lin, H. (2005). Nutrition in inflammatory bowel disease. En libro: *Inflammatory Bowel Disease: From Bench to Bedside*. Targan, S., Shanahan, F. y Karp, L. (ed.), Springer US. pp: 587-604.