

A N A L E S
D E L A
R E A L A C A D E M I A
N A C I O N A L
D E F A R M A C I A

VOLUMEN 88. NÚMERO 3 (2022) · JULIO - SEPTIEMBRE
ACCESO ABIERTO





ANALES

RANF

REAL ACADEMIA
NACIONAL DE FARMACIA

REVISTA CIENTÍFICA

AÑO 2022 - NÚMERO 03

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>

J.S.S.N. 1697-428X / E-ISSN: 1697-428X

VOLUMEN 88. NÚMERO 3 (2022) · JULIO - SEPTIEMBRE

RESISTANCE
METABOLIS
LUCOS
DIAE
YCEMIA
ACIDOSIS
SUGAR
INJECT

SUMARIO

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

MATERNAL FRUCTOSE INTAKE MODULATES CHOLESTEROL METABOLISM IN RESPONSE TO A WESTERN DIET IN THE OFFSPRING
PALOMA LOPEZ LAIZ, ELENA FAUSTE, ET AL.

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE EL PAPEL CLAVE DE LAS VESÍCULAS EXTRA-CELULARES EN LA ENFERMEDAD DE HIGADO GRASO NO ALCOHÓLICA
IRMA GARCIA-MARTINEZ, ROSA ALÉN, ET AL.

CAMBIOS EN EL ESTILO DE VIDA DURANTE EL CONFINAMIENTO POR LA PANDEMIA DE SARS-COV-2 EN EUROPA: UNA REVISIÓN
AMELIA MARTI DEL MORAL Y NATALIA VAZQUEZ BOLEA

ENSAYOS CLÍNICOS CON MEDICAMENTOS ESTÉRILES. ANÁLISIS DEL REGISTRO ESPAÑOL DE ENSAYOS CLÍNICOS
ALBERTO GARCÍA-ROJO DE CÓZAR

ACTUALIZACIÓN EN TABAQUISMO, ABORDAJE DESDE LA FARMACIA COMUNITARIA Y TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS DE ELECCIÓN
MIGUEL C. AGUILÓ JUANOLA

NOTICIAS FÁRMACOS DE NUEVA APROBACIÓN

FÁRMACOS NOVEDOSOS AUTORIZADOS RECIENTEMENTE POR LA EMA Y LA FDA (3º TRIMESTRE DE 2022)
SANTIAGO CUÉLLAR RODRÍGUEZ

Revista editada por:

REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA
Calle de la Farmacia, 9-11 (Madrid)
Teléfonos: 91 531 65 51
I.S.S.N 1697-428X
DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.



Presidente Comité Editorial

Doadrio Villarejo, Antonio L.
Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia

Directora Ejecutiva

Salaices Sánchez, Mercedes.
Vicesecretaria de la Real Academia Nacional de Farmacia

Editor Científico

Menéndez Ramos, José Carlos
Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Consejo Editorial

Avendaño López, Carmen
Ribas Ozonas, Bartolomé
Villar del Fresno, Ángel María
Lacadena Calero, Juan Ramón
Rodríguez-Boto, Gregorio
Salinas Sánchez, Jesús
Académicos de la Real Academia Nacional de Farmacia

Coordinación

Edición online RANF

Manuel Tirado Juárez

Coordinación ARP

Luis Javier Aróstegui Plaza

Diseño web

Montse López Ferres

Diseño revista

M. Nieves Gallardo Collado

Consejo Editorial

Tamargo Menéndez, Juan
Mayor Zaragoza, Federico
Rodríguez Artalejo, Antonio
Puerto Sarmiento, Javier
García Sacristán, Albino
Vilas Sánchez, Vicente
Nombela Cano, César
del Castillo García, Benito
Sentandreu Ramón, Rafael
Sánchez Muniz, Francisco José
Abelló Gallo, Juan
Ortega Ortiz de Apodaca, Fidel
Basante Pol, Rosa
Alonso Fernández, María José
Ortiz Melón, José Miguel
Giménez Gallego, Guillermo
Medina Jiménez, José M^a
Barcina Angulo, Yolanda
Domínguez-Gil Hurlé, Alfonso
Esteban Rodríguez, Mariano
Cabezas Fernández del Campo, J. Antonio
Sanz Pérez, Bernabé
Guinovart Cirera, Joan J.
Vallet Regí, María
Martínez Fernández, Antonio Ramón
Manzanares Robles, Jorge
Gómez-Serranillos Cuadrado, M^a Pilar
González Bueno, Antonio I.
Molina Martín, María
Martínez Lanao, José
Daniel de la Cruz Sánchez Mata
Tomás Girbes Juan

Comité Científico Internacional

Prof. Aquiles Arancibia Orrego (Chile)
Prof. Lucette Bardet (Francia)
Kazuhiro Imai (Japón)
Vicenzo Tortorella (Italia)
Bernard Portha (Francia)
Joaquim Alexandre Ribeiro (Portugal)
Herbert Zimmermann (Alemania)
Adolfo Pérez Miravete (Méjico)
Carl - Göran Eden (Suecia)

ÍNDICE

p. 257

MATERNAL FRUCTOSE INTAKE MODULATES CHOLESTEROL METABOLISM IN RESPONSE TO A WESTERN DIET IN THE OFFSPRING
PALOMA LOPEZ LAIZ, ELENA FAUSTE, ET AL.

p. 277

NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE EL PAPEL CLAVE DE LAS VESICULAS EXTRA- CELULARES EN LA ENFERMEDAD DE HIGADO GRASO NO ALCOHOLICA
IRMA GARCIA-MARTINEZ, ROSA ALEN, ET AL.

p. 293

CAMBIOS EN EL ESTILO DE VIDA DURANTE EL CONFINAMIENTO POR LA PANDEMIA DE SARS-COV-2 EN EUROPA: UNA REVISIÓN
AMELIA MARTI DEL MORAL Y NATALIA VAZQUEZ BOLEA

p. 303

ENSAYOS CLÍNICOS CON MEDICAMENTOS ESTÉRILES. ANÁLISIS DEL REGISTRO ESPAÑOL DE ENSAYOS CLÍNICOS
ALBERTO GARCÍA-ROJO DE CÓZAR

p. 311

ACTUALIZACIÓN EN TABAQUISMO, ABORDAJE DESDE LA FARMACIA COMUNITARIA Y TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS DE ELECCIÓN
MIGUEL C. AGUILÓ JUANOLA

p. 323

FÁRMACOS NOVEDOSOS AUTORIZADOS RECIENTEMENTE POR LA EMA Y LA FDA (3º TRIMESTRE DE 2022)
SANTIAGO CUÉLLAR RODRÍGUEZ

MATERNAL FRUCTOSE INTAKE MODULATES CHOLESTEROL METABOLISM IN RESPONSE TO A WESTERN DIET IN THE OFFSPRING

LA INGESTA MATERNA DE FRUCTOSA MODULA EL METABOLISMO DEL COLESTEROL EN RESPUESTA A UNA DIETA OCCIDENTAL EN LA DESCENDENCIA

Paloma López Laiz, Elena Fauste, M^a Isabel Panadero, Cristina Donis, Paola Otero y Carlos Bocos

Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo-CEU, CEU Universities, Montepríncipe, Boadilla del Monte, Madrid, Spain

corresponding author: p.lopez83@usp.ceu.es

REVISIÓN

Trabajo ganador del Premio Raffaella Pagani del Concurso Científico de la RANF 2021

ABSTRACT

Fructose consumption has increased during the last decades, while a simultaneous rise in the incidence of pathologies such as type 2 diabetes and metabolic syndrome has also taken place. Although there is evidence that fructose can cause alterations in the offspring related to the development of the aforementioned diseases, exposure to fructose during pregnancy is not contraindicated for women. This effect is explained by the concept of foetal programming, which suggests that changes that occur during the embryogenic and foetal stages are permanent in the adult, due to maternal health, diet and other environmental factors.

Therefore, the effect of fructose on cholesterol metabolism in the offspring of mothers fed with or without fructose during gestation was studied. In addition, the progeny also received different diets: fructose (with and without supplementation of cholesterol) or tagatose solutions.

Tagatose increased non-HDL cholesterol in the offspring of water-fed mothers, whereas fructose consumption during gestation dampened this effect, indicating foetal programming. In addition, fructose and tagatose feeding increased atherogenic indices by decreasing HDL-cholesterol concentration and increasing triglycerides levels.

On the other hand, the addition of cholesterol to fructose consumption caused an increase in total cholesterol and a change in its distribution: higher concentration of non-HDL cholesterol and lower concentration of HDL cholesterol, independently of maternal feeding. This also caused an increase in atherogenic indices.

Ultimately, the results indicate that cholesterol metabolism is influenced by both maternal fructose consumption, and the subsequent intake of fructose (alone or in combination with cholesterol) and tagatose in the offspring.

RESUMEN

El consumo de fructosa ha aumentado en las últimas décadas, en paralelo a la incidencia de síndrome metabólico y diabetes tipo 2. Múltiples evidencias sugieren que la ingesta materna de fructosa provoca alteraciones en la descendencia favoreciendo el desarrollo de síndrome metabólico. Sin embargo, la ingesta de fructosa durante el embarazo no está contraindicada. Este efecto se produce a través de la programación fetal, según la cual cambios como la dieta materna y ambientales durante las etapas embrionaria y fetal conducen a alteraciones en la etapa adulta de la descendencia.

Con estos antecedentes, estudiamos el efecto de la ingesta materna de fructosa sobre el metabolismo del colesterol en la descendencia. Además, la progenie también se sometió a diferentes tratamientos dietéticos: fructosa, fructosa con colesterol y tagatosa.

La tagatosa provocó un aumento del colesterol no HDL en la descendencia de madres control, mientras que el consumo materno de fructosa amortiguó este efecto, sugiriendo una programación fetal. Además, la suplementación con fructosa y con tagatosa provocaron un aumento de los índices aterogénicos disminuyendo la concentración de colesterol HDL y aumentando la de triglicéridos.

Además, la suplementación con colesterol y fructosa provocó un aumento en los niveles plasmáticos de colesterol total y colesterol no HDL y una disminución del colesterol HDL, independientemente de la alimentación materna, provocando un aumento de los índices aterogénicos.

En definitiva, los resultados indican que el metabolismo del colesterol está influenciado tanto por el consumo materno de fructosa como por los tratamientos dietéticos posteriores de la descendencia: fructosa, fructosa con colesterol y tagatosa.

Keywords:

fructose
tagatose
cholesterol
foetal programming
atherogenic index
HDL

Palabras Clave:

fructosa
tagatosa
colesterol
programación fetal
índice aterogénico
HDL

1. INTRODUCCIÓN

1. 1. Fructose intake

During the last five decades, there has been an exponential increase in the consumption of sugars, because of their ability to enhance the palatability of food. Among them, the high intake of free fructose appears particularly significant. The traditional sweetener, sucrose, a disaccharide containing one glucose and one fructose molecule joined together, has been replaced by high-fructose corn syrup (HFCS) as caloric sweetener in beverages and other foods (1, 2). High-fructose corn syrup was developed in the 1960s as a cheaper sweetener. It is produced from corn syrup through an enzymatic isomerisation process that converts some of its original glucose content into fructose. There are two main forms of HFCS commercialised: HFCS-42 and HFCS-55, which contain 42% and 55% fructose respectively (3, 4). However, studies have shown that the exact fructose load may vary among manufacturers, with a maximum of 65% of fructose content. This indicates that a higher than assumed fructose consumption may have been taking place unknowingly (5).

Added sugars consumption, especially in the form of calorically sweetened beverages, has been linked to an increased body weight (6, 7), reduced high-density lipoprotein (HDL) levels and augmented low-density lipoprotein (LDL) and triglyceride levels (7, 8), which are parameters known to increase the risk of cardiovascular diseases. This is why the World Health Organisation (WHO) recommends that the energy provided by the consumption of added sugars should not exceed 10% of the total energy in a diet (9).

1. 2. Pathologies related to fructose intake

Many studies have demonstrated that the increasing consumption of fructose is related to the epidemics of metabolic syndrome, type 2 diabetes and cardiovascular diseases (10, 11).

Metabolic syndrome has been defined by the WHO as a

group of disorders, including abdominal obesity, insulin resistance, hypertension and hyperlipidaemia (12). The mechanisms that cause its onset are unknown, but it is believed to be a combination of environmental and genetic factors (13). Given that fructose reduces leptin production (1), satiety signals are bypassed and overconsumption, weight gain and insulin resistance are promoted (14). Moreover, fructose produces dyslipidaemia and an increase in visceral adipose volume (15).

Type 2 diabetes is characterised by insulin resistance, whereby the cells are unable to uptake circulating blood glucose. Countries with a high HFCS consumption present a 20% higher prevalence of type 2 diabetes, independently of Body Mass Index (BMI) or total sugar intake (16).

1. 3. Tagatose

Tagatose is a monosaccharide discovered by Dr Gilbert V. Levin, in his attempt to find a new sweetener (17). It fulfilled his aim, given that tagatose is 92% as sweet as sucrose and provides virtually no available energy (18). It has been approved for human consumption by the Food and Drug Administration (FDA) and the European Union (19, 20). Nevertheless, it has laxative properties at high doses, because only 20% of the intake is absorbed in the intestine. Tagatose passes into the lower intestine, where it produces an osmotic effect (18, 21, 22).

Tagatose can be synthesised by a chemical and enzymatic treatment of the lactose found in deproteinised whey, which is a waste product of the dairy industry. It can be also directly obtained from the galactose derived from lactose (22).

Tagatose has been proposed as an antidiabetic drug, as it controls post-prandial hyperglycaemia, hyperinsulinemia and HbA1C levels (20, 22, 23). Its consumption can also cause weight loss at a clinically desirable rate and has antioxidant and prebiotic properties (22); and unlike fructose, it does not cause elevations in plasma uric acid concentration (24).

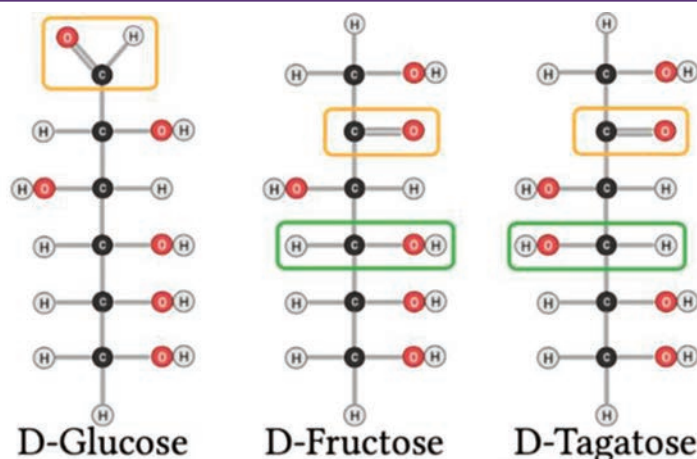


Figure 1. Structures of D-glucose, D-fructose and D-tagatose. The yellow boxes indicate the ketone or aldehyde group present in the molecules, while the green boxes refer to the spatial arrangement of substituents at stereogenic carbon 4 that differentiates both epimers, fructose and tagatose. Created with BioRender.com.



1. 4. Structure of fructose, glucose and tagatose

Monosaccharides are crystalline solids that tend to have a sweet taste. They are made up by carbon chains of varying length with a ketone or an aldehyde group. The most representative monosaccharides are the hexoses, and among them, glucose and fructose, due to their free availability. They are found in fruits and honey. Tagatose, on the other hand, is referred to as a rare sugar, which means that it is a monosaccharide that rarely exist in nature. These three compounds have structural differences, as it is shown in Figure 1: glucose contains an aldehyde group, while fructose and tagatose present ketone groups in carbon 2. Fructose and tagatose are epimers at carbon 4 (2, 25, 26).

Due to the differences in their structure, these three monosaccharides undergo different metabolic pathways, shown in Figure 2.

Fructose is transported into the enterocytes through glucose transporter 5 (GLUT5), a process that is not dependent on either sodium cotransport or adenosine triphosphate (ATP). Then, it is released to the bloodstream through GLUT2 (1, 2, 28). Afterwards, fructose uptake into the liver cells mainly occurs through GLUT2 by a non-insulin dependent mechanism (1, 29). Fructose is preferentially sent to the liver, where it is phosphorylated through the action of an enzyme called fructokinase, yielding fructose-1-phosphate. This enzyme has a high affinity for fructose, so the reaction rate is high (30). As ATP is a required substrate for the phosphorylation, large

quantities of AMP are produced, which in turn increase uric acid synthesis (2). Fructose-6-phosphate is then cleaved by aldolase B, producing glyceraldehyde and dihydroxyacetone phosphate (31). These trioses-phosphate can be converted into pyruvate and enter the tricarboxylic acid cycle, to finally obtain CO₂ and H₂O. Even so, part of the triose phosphates will result in lactate and glucose formation (via gluconeogenesis), which can be converted to glycogen (2, 14, 32). A fraction of the carbons of fructose become constituents of lipids, through a process called *de novo* lipogenesis (DNL) (33). It has been demonstrated that in fructose-fed rats, lactate is the substance with the highest lipogenic capacity (34).

Glucose is absorbed in the intestine by a sodium-glucose cotransporter (or sodium-glucose linked transporter, SGLT) (35). Once it reaches the liver, it can be degraded through glycolysis. In the first reaction of this pathway, glucose is phosphorylated to glucose-6-phosphate by the action of glucokinase. This enzyme has a low affinity for glucose, so its conversion depends on glucose concentrations (36). Then, glucose-6-phosphate is transformed into fructose-6-phosphate, which in the next step is converted into fructose-1,6-bisphosphate. This last reaction is catalysed by the enzyme phosphofructokinase, which is inhibited by ATP and citrate (37). Fructose-1,6-bisphosphate is also cleaved into glyceraldehyde-3-phosphate and dihydroxyacetone phosphate. Both, the strict regulation of phosphofructokinase and the low affinity of glucokinase for glucose allow a greater control of the speed at which glucose is degraded through glycolysis (2).

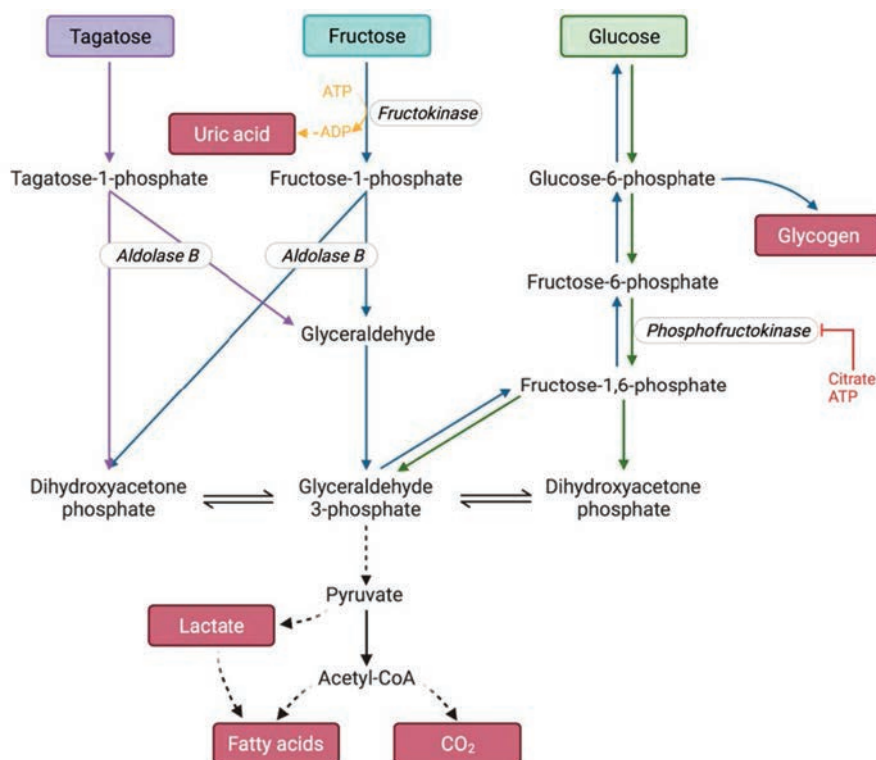


Figure 2. Glucose, fructose and tagatose metabolism. The colours correspond to the metabolism of one of the hexoses: blue-fructose, green-glucose and purple-tagatose. The blue arrows also indicate how glucose and glycogen are formed as a result of fructose metabolism. The enzymes are represented in italics. Created with BioRender.com.

The metabolism of tagatose is identical to that of fructose, but it takes place at a slower speed. Tagatose is also transformed into tagatose-1-phosphate and it is cleaved by aldolase B into glyceraldehyde and dihydroxyacetone phosphate. This is the point at which glucose, tagatose and fructose metabolisms are connected. Tagatose-1-phosphate is an activator of glucokinase, so glucose is transformed into glucose-6-phosphate at a higher rate. The higher concentration of glucose-6-phosphate promotes the action of the hepatic glycogen synthase, and glycogenesis takes place. Moreover, tagatose-1-phosphate is an inhibitor of glycogen phosphorylase, so glucose remains stored as glycogen. These effects lead to a lower post-prandial glycaemia (22, 38).

1.5. Cholesterol metabolism

Cholesterol and lipid esters, like triacylglycerols, are hydrophobic molecules, but they need to be transported in blood to the tissues where they will be stored or consumed. For that purpose, there are some particles called lipoproteins, that act as lipid carriers. They form complexes through the non-covalent association of lipids to apoproteins. Lipoproteins are water soluble particles with a hydrophobic core and a polar surface. There are several types of lipoproteins, depending on their densities and functions (39, 40):

- Chylomicrons: they carry mainly triacylglycerols from the diet and transport them from the intestine to other tissues. These lipoproteins are the largest in size, and the ones with the lowest density.
- Very-low-density lipoprotein (VLDL): they transport all the lipids that have been synthesised in the liver (mainly triglycerides) to the other tissues (i.e., muscle and adipose tissue).

VLDL is higher in density than chylomicrons. The microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) plays a central role in the assembly of VLDL.

– Low-density lipoproteins (LDL): they contain primarily cholesterol and cholesteryl esters. These molecules are transported to extrahepatic tissues. LDL uptake by the tissues is mediated through the specific interaction of its apoB protein with the LDL receptor (LDLR) present in the cell membrane. After this interaction, LDL reaches the cytosol of the cells through an endocytosis mediated mechanism.

– High-density lipoproteins (HDL): they are responsible for the reverse cholesterol transport (RCT), as they carry cholesterol and cholesteryl esters from extrahepatic tissues to the liver. HDL uptake by the liver occurs via the Scavenger receptor class B type 1 (SR-B1) receptor.

These lipoproteins work together to transport the lipids throughout the body, as can be seen in Figure 3.

1.6. Foetal programming

Foetal programming postulates that there is programming during the embryogenic and foetal stage that induces permanent changes in the adult. These modifications can be structural, physiological and metabolic and they will increase the risk of individuals to develop various diseases (41).

The programming can be performed through epigenetics: the nutritional conditions and the environment of the mother during the gestation can vary the expression of some genes. Also, imprinted genes are differentially expressed depending on the sex of the individual (42).

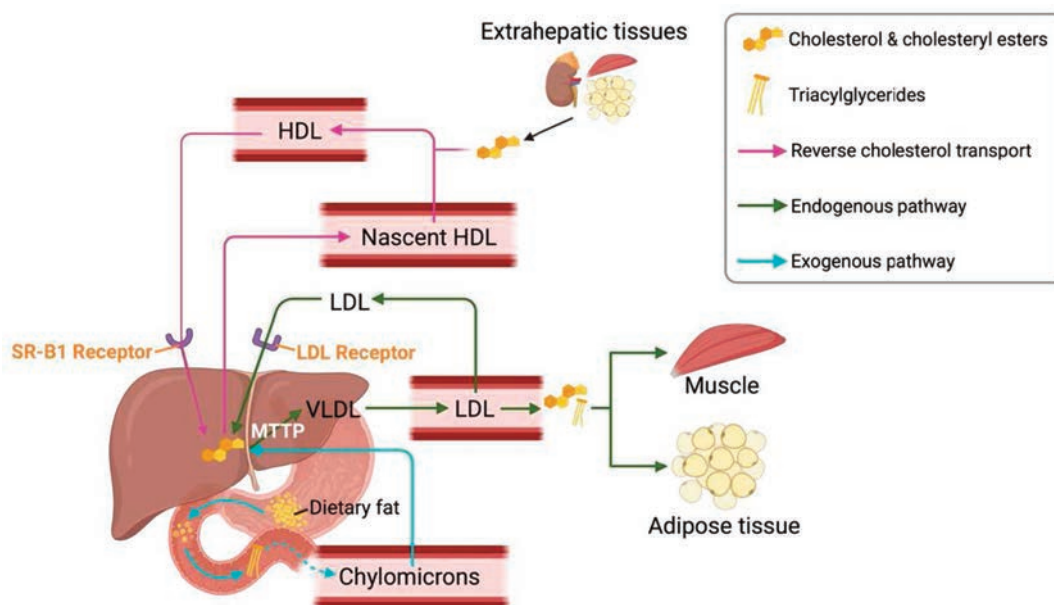


Figure 3. Lipoproteins and lipid transport. Created with BioRender.com.

Some studies have already shown the deleterious effect that fructose consumption during gestation can produce in the progeny: dyslipidaemia (43), lipids oxidative stress (44), modified leptin signalling (45) and impaired hippocampal function (46). Moreover, the outcome can be gender-dependent, as it is shown in a study (47) that demonstrated that cholesterol levels varied depending on the sex of the animal.

2. OBJECTIVES

The objectives of the present work are:

- To study whether fructose intake by pregnant rats during gestation has any effect on cholesterol metabolism of the male offspring.
- To determine whether fructose (or tagatose) and fructose plus cholesterol intake by male descendant rats produces any variation in their cholesterol metabolism and, in this case, to study whether these changes are affected by the maternal diet.

3. MATERIALS AND METHODS

3.1. Experimental design

The experiment was approved by the Ethics Committee. The experimental design was carried out as follows:

First, female and male Sprague-Dawley rats were mated. Once gestation was confirmed, female pregnant rats were provided with a standard diet, and they were separated in two groups according to the drink they received throughout gestation. The fructose

group received a 10% fructose solution (w/v), while the control group was provided with tap water. Then, after parturition, the litter was standardised to nine rats and both, the mother and the offspring drank water. The lactation finished at day 21, and only the male rats were kept until three months of age. They received a standard diet and water without any supplement. Once they reached 3 months of age, male rats were also separated into various groups, depending on the diet:

- Control group: they consumed water without additives and a standard diet.
- Fructose group: they received a 10% fructose solution (w/v) and a standard diet.
- Tagatose group: they consumed a 10% tagatose solution (w/v) and a standard diet.
- Fructose plus cholesterol group: they were given a 10% fructose solution (w/v) and a standard diet supplemented with 2% cholesterol.

In total, since the maternal treatment was also taken into account, there were 8 experimental groups of male rats, which are shown in Figure 4. After the 21 days of diet, the rats were sacrificed. Their blood was collected in EDTA-K₂ tubes, which was centrifuged to separate the plasma. Also, their livers were weighted. Both plasma and livers were frozen at – 80 °C for their later use.

3.2. Biochemical parameter assays

3.2.a. Total plasma cholesterol determination

It was performed with an enzymatic colorimetric end-point assay, using a Spinreact (Spain) kit.

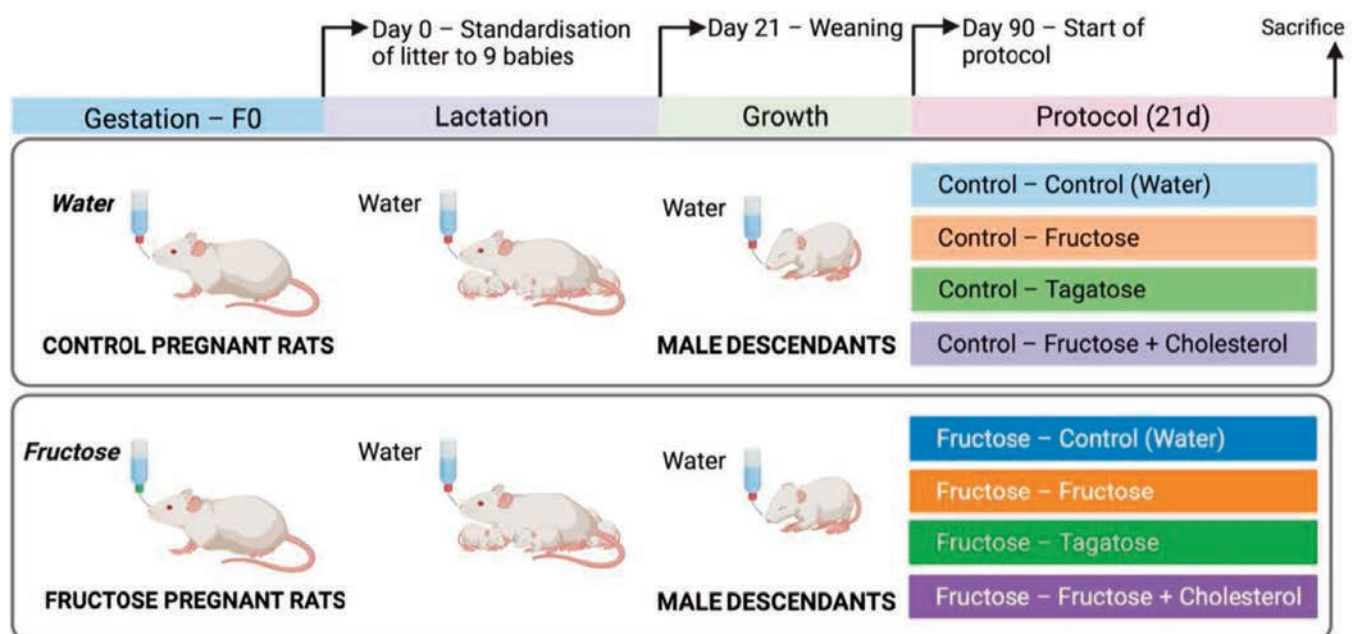


Figure 4. Experimental Design. Created with BioRender.com.



3.2.b. Plasma triglycerides determination

It was performed with an enzymatic colorimetric end-point assay, using a Spinreact (Spain) kit.

3.2.c. HDL cholesterol determination

The objective was the determination of High-density Lipoprotein (HDL) cholesterol levels. For this purpose, a two-step process was carried out:

3.2.c.a. Precipitation of non-HDL cholesterol lipoproteins

Phosphotungstic acid, in combination with magnesium chloride, is able to precipitate apo B containing lipoproteins (chylomicrons, VLDL and Low-density Lipoproteins (LDL)). The kit used was from Spinreact, Spain. The volumes employed were 100µL of sample and 10µL HDLc-P (the precipitating reagent). After a 10-minute incubation at room temperature, the samples were centrifuged at 12,000rpm for 30 minutes at room temperature. The supernatant was used for subsequent HDL-cholesterol levels determination.

3.2.c.b. HDL cholesterol determination

The determination of HDL cholesterol levels was performed with an enzymatic colorimetric end-point assay, using a Spinreact (Spain) kit. It is based on the detection at 505nm of a coloured compound (quinoneimine), that is generated from cholesterol after sequential enzymatic reactions. The calculation of non-HDL cholesterol was obtained from the difference of total cholesterol concentration minus HDL cholesterol concentration.

3.2.d. Coronary Risk Index (CRI)

The CRI is calculated from total cholesterol and HDL-cholesterol data. The formula is:

$$CRI = \frac{\text{Total cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}}$$

3.2.e. Atherogenic Index of Plasma (AIP)

The AIP is calculated from triglyceride and HDL-cholesterol data. The formula is:

$$API = \log \left(\frac{\text{Triglycerides}}{\text{HDL cholesterol}} \right)$$

3.3. Molecular parameters assays

3.3.a. RNA Extraction

The Ambion® RiboPure™ kit was used to isolate ribonucleic acid (RNA) from liver tissues. For this purpose, 100mg of liver tissue were obtained and were later homogenised in the presence of TRI Reagent® with the TissueLyser®. TRI Reagent® contains both phenol and guanidine thiocyanate, which lyse the cells and inactivate nucleases in order to prevent nucleic acid degradation. Then, this mixture was centrifuged to separate all the insoluble components. The supernatant was collected and bromochloropropane (BCP) was added. BCP produces the formation of two phases: aqueous phase and organic phase. RNA will stay in the aqueous phase, while desoxyribonucleic acid (DNA) and proteins remain in the interphase or the organic phase. The aqueous phase was subsequently introduced in a series of columns to purify and extract the RNA, which was later quantified in the Nanodrop®. Then, an agarose gel electrophoresis was performed to verify the integrity of RNA (Figure 5).

To ensure the total elimination of DNA from the sample, the Ambion® TURBO DNA-free™ kit was employed. This kit contains deoxyribonucleases (DNases) that degrade the DNA present. Then, as a way to confirm that any contamination of DNA had been removed, a polymerase chain reaction (PCR) using RPS29 (ribosomal protein S29) primers, and the subsequent agarose gel electrophoresis were performed. The outcome was as expected: only the positive control showed a nitid result and no bands appeared in the samples containing RNA treated with DNase, confirming the absence of DNA contaminant.

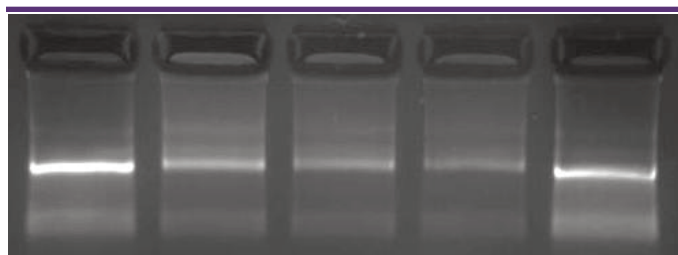


Figure 5. Agarose gel electrophoresis of RNA extraction. The two more visible bands correspond to the 28S and 18S ribosomal RNA.

3.3.b. Reverse Transcription-PCR (RT-PCR)

After the purification step with DNase, the sample only contained RNA. In order to quantify the amount of messenger RNA (mRNA) in the samples through real time PCR, it is previously required to convert the mRNA into complementary DNA (cDNA). With this aim, a reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) was carried out using the SuperScript™ II Reverse Transcriptase

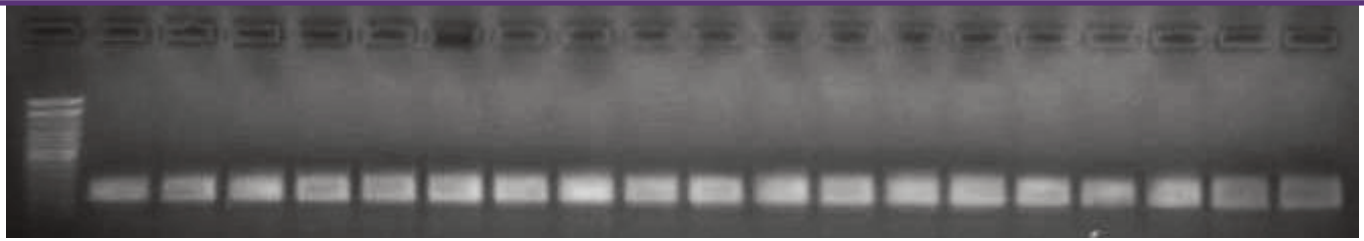


Figure 6. Agarose gel electrophoresis of RT-PCR.

(Invitrogen™, USA). After this procedure, both a normal PCR and an agarose gel electrophoresis (Figure 6) were performed to ensure that the cDNA obtained was functional. This PCR was done with primers that bind to a housekeeping gene sequence, the ribosomal protein S29 (RPS29) gene. As shown in Figure 6, all cDNA samples correctly amplified the product of RPS29 gene, confirming the functionality of the cDNA that had been obtained.

3.3.c. Real-Time Polymerase Chain Reaction (Real-Time PCR)

3.3.c.a. Basic principles of the method

The real-time PCR is a technique that allows the quantification of the DNA present in a sample due to the detection of fluorescent particles that bind specifically to the double stranded DNA (dsDNA) (Figure 7). The measurement of fluorescent intensity is performed after each cycle of PCR, because, as it is the point at which more dsDNA is present, the signal will be greater. The fluorophore used was SYBR Green I, which binds preferentially to dsDNA.

The rate at which DNA is generated is not linear and there are four stages in its production, according to the intensity of fluorescence detected (48):

- Baseline: the initial amount of dsDNA is minimal, and the fluorescence intensity is too low to be detected.
- Exponential: when the detection threshold has been over-passed, the intensity changes exponentially. The cycle at which the fluorescence is detected and starts raising exponentially is called Crossing Point (Cp). This parameter is inversely proportional to the initial quantity of DNA. Thus, the lower the DNA amount, the higher the number of cycles required to get the signal detected, resulting in a higher Cp value.
- Linear: the reaction rate decreases because there are not enough DNA polymerase molecules to grow all the DNA strands already produced.
- Plateau: the DNA polymerase is saturated, so the signal is maintained constant, resulting in a plateau region.

The initial amount of cDNA can be quantified using a calibration line. To create it, serial 1/10 dilutions of a standard sample with a known DNA concentration were prepared and their Cp obtained. Then, the cDNA concentration of the samples is obtained by the interpolation of their Cp value in the calibration line.

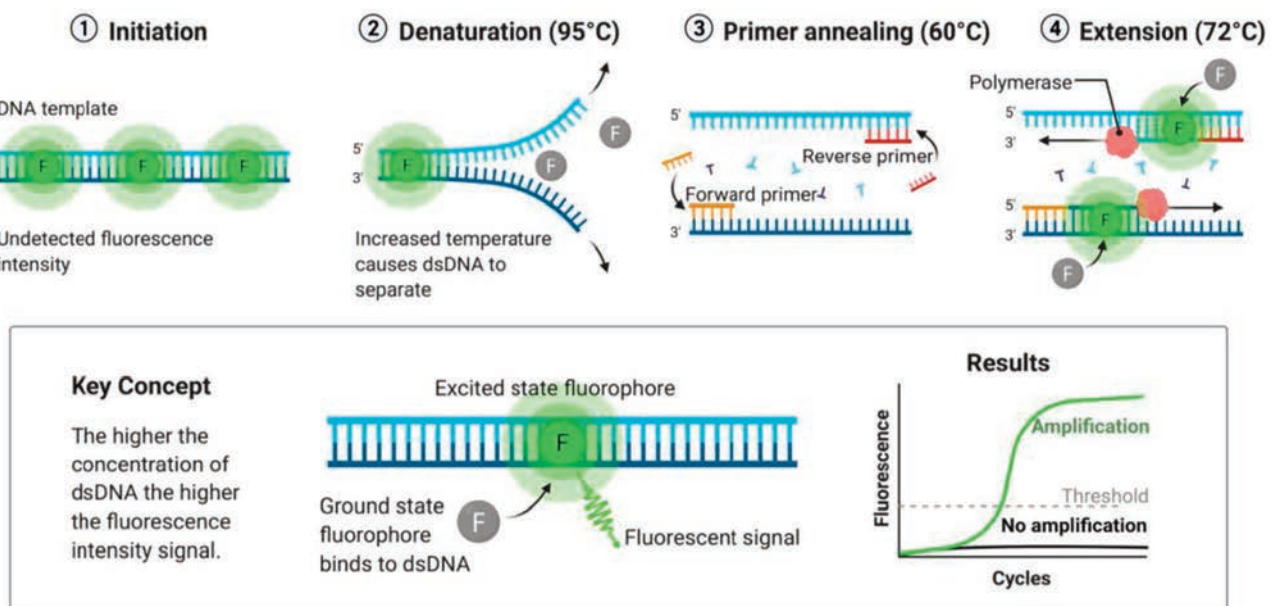


Figure 7. Scheme of the mechanism of the Real-Time PCR. The fluorophore (SYBR Green I) is only able to emit fluorescence in the excited state, i.e., when bound to double stranded DNA (dsDNA). Created with BioRender.com.

Table 1. Sequence of the primers used for the cDNA amplification.

Gen	Forward Primer	Reverse Primer	Amplicon	Origin
LDLR	5'-CACCCAAGTTCACCTGCGCTTGCC-3'	5'-AGGACACTGTCACCGACTCCACTG-3'	291bp	Clontech
MTTP	5'-TCTGTGGTACCGGAGTCTA-3'	5'-GGGTACTGGGAGAACTGCAC-3'	165bp	Primer3
SR-B1	5'-GTTCCGTGAAGATGCAGCTGAG-3'	5'-AACCACAGCAATGGCAGGACTAC-3'	97bp	(49)

3. 3.c.b. SYBR Green I Real-Time PCR Protocol

The CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, USA) was used to perform this assay. For each sample, the following volumes were added: 1µL forward primer (10µM), 1µL reverse primer (10µM), 10µL SYBR green Premix Ex Taq (Takara Bio Inc., Japan), 6µL deionised water and 2µL sample. The information regarding the primers used in the present work can be found in Table 1.

An agarose gel electrophoresis was performed after each real time-PCR experiment to verify that the amplicon obtained matched the expected result (Figures 8 and 9).

3.4. Statistical analysis

The assays were carried out with samples from 7 animals per group, except for group Control-Control, which had 8 animals. Results were expressed as means \pm standard error (SE) and they were analysed by two-way ANOVA (Analysis of Variance). If the differences were statistically significant ($p < 0.05$), they were analysed through *a posteriori* Bonferroni correction to identify the variance significance. There were two factors analysed:

- The effect of fructose intake during gestation by the mothers (M) on the male offspring. Statistically significant differences between Control Mothers vs. Fructose Mothers will be indicated with a hash (#), and in case the difference is almost statistically significant, it will be indicated with an ampersand (&).
- The effect of the diets received by the male offspring at 3 months of age (D). The differences between treatments within the same mother will be indicated with an asterisk (*).

The value of eta squared (η^2) determines the proportion of the variance that is attributed to the mother (M), the diet (D) or the interaction between both parameters (M*D).

All the statistical determinations were performed with the program SPSS.

4. RESULTS AND DISCUSSION

To facilitate the comprehension of the findings regarding the diet provided to the male offspring, the results will be grouped into two studies:

- Study I. Effect of Fructose consumption *versus* (vs.) *Tagatose*. This analysis will allow to determine if the observed effects are fructose specific.
- Study II. Effect of Fructose consumption alone vs. Fructose plus Cholesterol.

In addition, the effect of maternal feeding during gestation (water or fructose) on the cholesterol metabolism of their offspring will be analysed within each group.

4.1. Study I. Effect of Fructose consumption vs. Tagatose

4.1.a. Plasma total cholesterol and triglycerides levels

The results of the two-way ANOVA are presented in Table 2. Regarding total cholesterol concentration, the changes observed seem to be due to the different diets received by the male offspring, although the difference is not statistically significant ($p = 0.097$). On the other hand, both the maternal treatment (M) and the diet (D) seem to affect triglycerides levels, but these differences did not reach statistical significance ($p = 0.054$ and $p = 0.094$ respectively).

Thus, Figure 10 shows the data after *a posteriori* Bonferroni correction.

The total cholesterol concentration in the offspring of control mothers shows statistically significant differences between the control and fructose groups when compared to the tagatose group. This would indicate that tagatose, and not fructose, produces a marked increase in total cholesterol levels. However, when studying the descendants of fructose supplemented mothers, we can observe that there are no variations between the groups, which suggests that this



Figure 8. Agarose gel electrophoresis of Real Time-PCR of MTTP.



Figure 9. Agarose gel electrophoresis of Real Time-PCR of LDLR.



Table 2.

<i>Cholesterol</i>	F	P value	η^2
MOTHER	1.272	0.267	0.033
DIET	2.485	0.097	0.118
MOTHER * DIET	2.030	0.146	0.099

<i>Triglycerides</i>	F	P value	η^2
MOTHER	3.974	0.054	0.097
DIET	2.517	0.094	0.120
MOTHER * DIET	0.113	0.893	0.006

Table 2. Two-way ANOVA of total Cholesterol and Triglyceride concentrations in plasma. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on the analysis of variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The yellow colour in the cell indicates that the difference is almost statistically significant.

effect disappears with fructose consumption during gestation. As indicated in Figure 10 with a hash (#), cholesterol levels in tagatose supplemented descendants from control mothers are significantly higher than those of tagatose supplemented descendants from fructose mothers.

On the other hand, there is a tendency to increase the plasma triglycerides levels in those groups of descendants receiving any carbohydrate (fructose or tagatose) *versus* descendants that consumed water. Moreover, this trend was observed regardless of the diet of the mothers.

4. 1.b. HDL cholesterol and non-HDL cholesterol concentration in plasma

To further study if there was an effect in cholesterol metabolism due to fructose or tagatose intake, HDL cholesterol and non-HDL cholesterol levels were determined. As shown in Table 3, there are no significant differences in the HDL cholesterol that could be attributed to the diet, the mothers or the sum of both factors. However, regarding non-HDL cholesterol, both the consumption of the mothers (M) during the gestation and the diets (D) that the male offspring received, showed almost statistically significant differences (M, $p=0.087$; D, $p=0.064$).

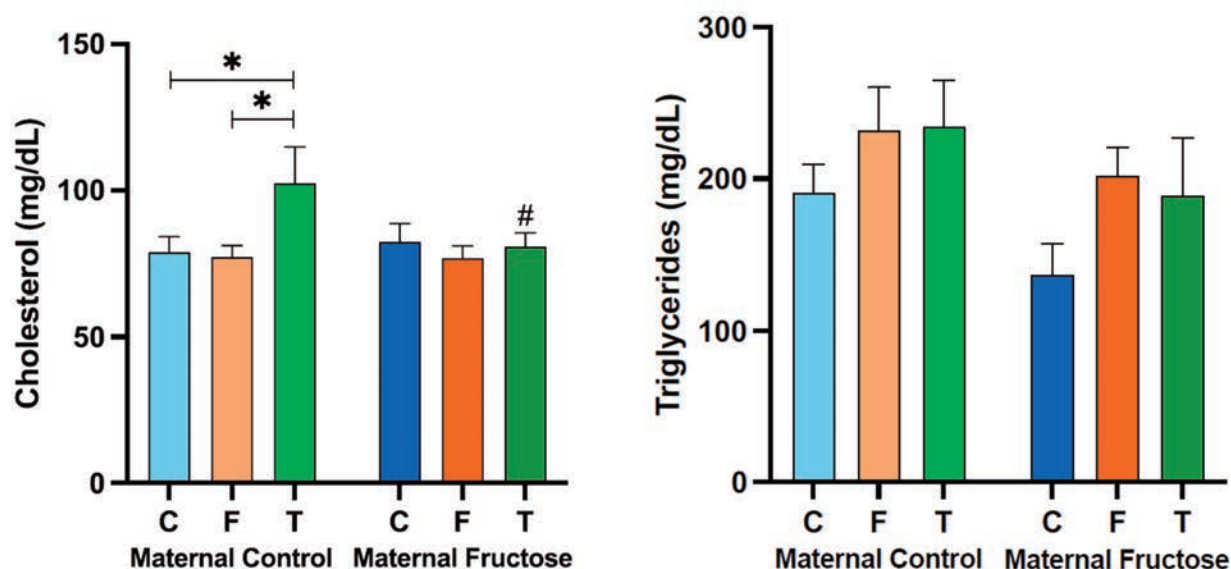


Figure 10. Plasma total cholesterol and triglycerides levels in the male progeny, after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water–C, orange bar: fructose–F, green bar: tagatose–T). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol * indicates statistically significant differences between diets, and the # between maternal intake.



Table 3

HDL cholesterol	F	P value	η^2
MOTHER	0.554	0.461	0.015
DIET	1.586	0.219	0.081
MOTHER * DIET	2.081	0.140	0.104

non-HDL cholesterol	F	P value	η^2
MOTHER	3.100	0.087	0.079
DIET	2.974	0.064	0.142
MOTHER * DIET	2.030	1.346	0.070

Table 3. Two-way ANOVA of HDL and non-HDL cholesterol plasma levels. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on the analysis of variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The yellow colour in the cell indicates that the difference is almost statistically significant.

After performing the Bonferroni test, as it can be seen in Figure 11, no statistically significant differences are found in the HDL cholesterol. Nevertheless, there is a tendency of higher HDL cholesterol levels in the group of males from control mothers that drank the tagatose solution *versus* those drinking water and fructose. However, the effect was not observed in the descendants of fructose supplemented mothers. Curiously, there is an almost statistically significant decrease in HDL cholesterol levels ($p=0.086$, denoted with a & symbol in Figure 11), of tagatose supplemented descendants from fructose-mothers when compared with the descendants of control-mothers. This decrease would be a non-desirable effect, since HDL is known as "good" cholesterol, suggesting a lower protection

against cardiovascular diseases. Interestingly, in descendants from fructose fed mothers, a trend to decrease in HDL-cholesterol was found in males receiving both fructose and tagatose in comparison to males drinking water.

Regarding the non-HDL cholesterol concentration, the treatment received by the males in the maternal control group does produce statistically significant differences, especially between the ones that drank water and those supplemented with tagatose, showing this last group higher non-HDL cholesterol levels. Curiously, this tagatose-induced effect was, again, not observed in descendants of fructose-mothers and this observation was coincident to that one found for total cholesterol levels (Figure 10).

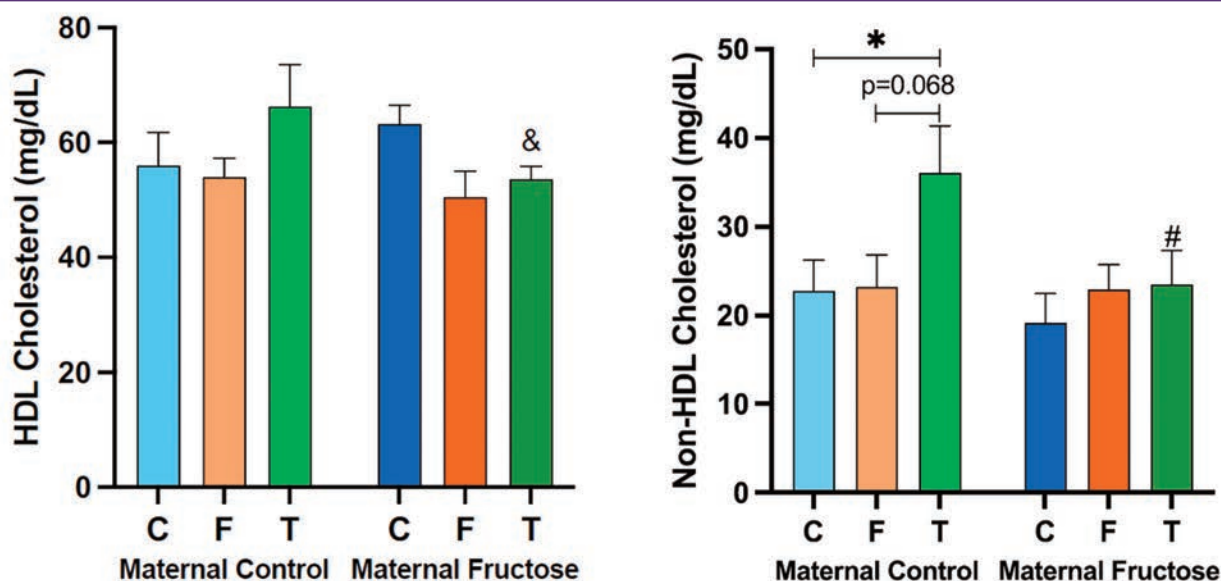


Figure 11. Plasma HDL cholesterol and non-HDL cholesterol concentration in the male progeny, after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water—C, orange bar: fructose—F, green bar: tagatose—T). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol * denotes statistically significant differences between diets, and the # between maternal intake. The symbol (&) corresponds to differences that are almost statistically significant between maternal intake.

Table 4

<i>MTTP expression</i>	F	P value	η^2
MOTHER	1.231	0.275	0.034
DIET	4.895	0.013	0.219
MOTHER * DIET	0.037	0.964	0.002
<i>LDLR expression</i>	F	P value	η^2
MOTHER	2.895	0.097	0.074
DIET	2.582	0.090	0.125
MOTHER * DIET	0.943	0.399	0.050
<i>SR-B1 expression</i>	F	P value	η^2
MOTHER	0.004	0.950	0.000
DIET	0.665	0.521	0.036
MOTHER * DIET	3.221	0.052	0.152

Table 4. Two-way ANOVA of hepatic MTTP, LDLR and SR-B1 expression. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on the analysis of variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The green colour in the cell indicates that the difference is statistically significant, while yellow represents that the difference is almost statistically significant.

4.1.c. Hepatic MTTP, LDLR and SR-B1 expression

Both the MTTP, LDLR and SR-B1 are genes coding for molecules involved in cholesterol metabolism.

After performing the two-way ANOVA with the expression data for the three genes, there is only one statistically significant difference (Table 4): in the expression of MTTP gene, for the influence of the diet (D) received by the male rats ($p=0.013$). However, almost statistically significant differences were found in the expression of LDLR

due to both the maternal treatment (M) and the diet (D) and in SRB1 expression due to the interaction between both treatments (M*D) (LDLR: $p=0.097$, M; $p=0.090$, D; SR-B1: $p=0.052$, M*D).

These possible statistical differences were further studied through *a posteriori* Bonferroni test, and they can be seen in Figure 12.

The hepatic expression of MTTP shows a tendency to increase in males that consumed fructose in both groups of descendants, those from control mothers and fructose-mothers. This trend

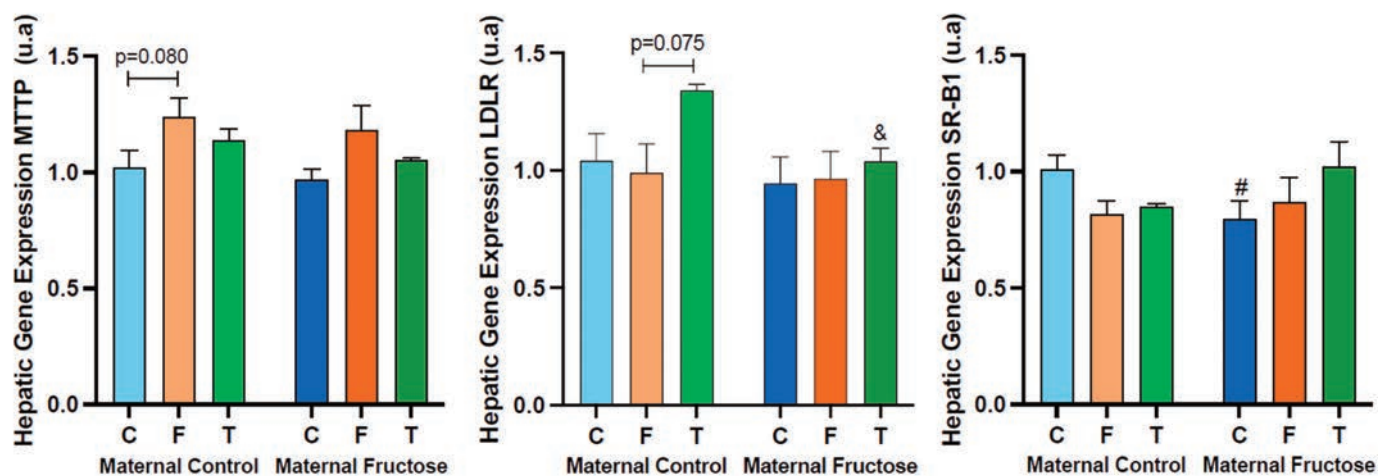


Figure 12. *MTTP*, *LDLR* and *SR-B1* hepatic gene expression in the male progeny, after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water–C, orange bar: fructose–F, green bar: tagatose–T). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol # corresponds to differences that are statistically significant between maternal consumption, and the symbol & to differences that are almost statistically significant between maternal intake.



Table 5

<i>CRI</i>	F	P value	η^2
MOTHER	2.462	0.126	0.066
DIET	1.157	0.326	0.062
MOTHER * DIET	0.688	0.509	0.038

<i>AIP</i>	F	P value	η^2
MOTHER	3.688	0.063	0.098
DIET	5.777	0.007	0.254
MOTHER * DIET	4.537	0.018	0.211

Table 5. Two-way ANOVA of Coronary Risk Index and Atherogenic Index of Plasma. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on the analysis of variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The green colour in the cell indicates that the difference is statistically significant, while yellow represents that the difference is almost statistically significant.

is almost statistically significant *versus* the descendants drinking water in the control maternal group, which would mean that the consumption of fructose increases the expression of MTTP. Given that this gene is involved in the production of non-HDL cholesterol, one would expect a higher concentration of this parameter in males consuming fructose than in those drinking only water. However, this effect cannot be seen in Figure 11 (non-HDL). Nevertheless, since MTTP protein also participates in the assembly of TG-rich lipoproteins to be released by the hepatocyte, it is logical to find a similar trend to increase in plasma TG of males receiving fructose (Figure 10).

On the other hand, hepatic LDLR gene expression tends to increase after consuming tagatose in descendants of control mothers, becoming almost significant in comparison to males consu-

ming fructose ($p=0.075$). Moreover, as it was also observed for total cholesterol, HDL cholesterol and non-HDL cholesterol levels (Figures 10 and 11) the consumption of fructose by the mothers has a dampening action in the effect of tagatose on gene expression. Consequently, an almost statistically significant difference between the two groups of tagatose supplemented rats was observed (denoted by a & symbol in Figure 12, LDLR). This result does not explain the findings observed in plasma non-HDL cholesterol, as an increase in the expression of LDLR would mean that more LDL cholesterol would be taken by the liver and diminished non-HDL cholesterol levels would be found in blood. In contrast, plasma non-HDL cholesterol concentration turned out to be more elevated in males consuming tagatose in comparison to the other two groups.

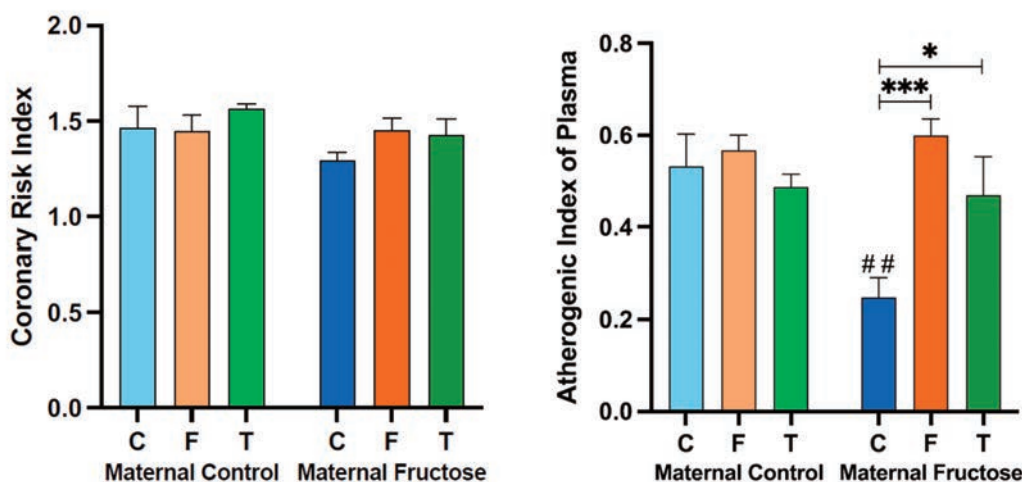


Figure 13. Coronary Risk Index and Atherogenic Index of Plasma obtained after calculation of with data from the samples obtained after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water—C, orange bar: fructose—F, green bar: tagatose—T). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol * represents statistically significant differences between diets, and the # between maternal intakes.



Lastly, the profile of the hepatic gene expression of SR-B1 varies among the offspring from the two maternal groups. On one hand, the effect of carbohydrate's intake in the expression of SR-B1 in descendants from control-mothers shows a decreasing tendency when compared to the rats receiving water. However, in descendants of fructose-fed mothers, this trend is the opposite, i.e., the expression seems to be induced by the intake of carbohydrates. On the other hand, there is a statistically significant decrease in the expression of SR-B1 between control rats from fructose fed mothers *versus* those from control mothers. As SR-B1 codes for a protein involved in the liver uptake of HDL cholesterol, opposite tendencies should be seen in the plasma HDL concentration (Figure 11), and remarkably we can confirm that this is the case.

(.1.d. Coronary Risk Index (CRI) and Atherogenic Index of Plasma (AIP)

Table 5 shows the result of performing a two-way ANOVA test on the Coronary Risk Index (CRI) and the Atherogenic Index of Plasma (AIP). As can be seen, there are only statistically significant differences in the AIP, for the factor of the diet (D) received by the male progeny ($p=0.007$) and the interaction between the two studied factors (diet and maternal feeding, $M*D$) ($p=0.018$).

As can be seen in Figure 13, there are no significant differences in the Coronary Risk Index when comparing all the groups. On the other hand, the Atherogenic Index of Plasma varies greatly among the groups. Firstly, there is a marked decrease in the males that drank water from fructose fed mothers *versus* those rats from control mothers. As AIP is a predictor of the risk for the development of cardiovascular diseases, this would indicate that maternal fructose supplementation would have a protective effect. If we look at the

HDL cholesterol (Figure 11) and triglycerides plasma levels (Figure 10), this decrease in AIP observed in the rats receiving water from fructose fed mothers is due to a lower triglycerides concentration and a slightly higher HDL cholesterol concentration compared to the males consuming water from control mothers. In addition, there are statistical differences among diet treatments in the fructose maternal group, indicating that fructose or tagatose intake in the offspring from fructose-fed mothers would have a greater tendency to undergo a cardiovascular event.

(.2.Study II: Effect of Fructose consumption alone vs. Fructose plus Cholesterol

(.2.a. Plasma total cholesterol and triglycerides levels

As can be seen in Table 6, the factor diet (D) produces statistically significant differences for both total cholesterol and triglycerides concentration, $p=0.000$ and $p=0.043$ respectively.

Thus, Figure 14, exhibits the data of plasma total cholesterol and triglycerides concentration of the male offspring.

The cholesterol concentration shows a marked increase in the males fed a fructose solution and a cholesterol-rich diet (FCh) when compared to the other dietary treatments (water or only fructose). This augmentation is statistically significant in both, descendants from control mothers and fructose-fed mothers. This result demonstrates that the addition of cholesterol to the fructose-rich diet causes, as expected, higher cholesterol levels in blood.

Regarding plasma triglycerides concentration, there is also a trend to an increase in the FCh group when compared to the C and F groups in descendants from both groups of mothers, reaching almost statistical significance only for descendants from fructose-fed mothers ($p=0.076$).

Table 6

<i>Cholesterol</i>	F	P value	η^2
MOTHER	0.046	0.832	0.001
DIET	11.395	0.000	0.381
MOTHER * DIET	0.064	0.939	0.003
<i>Triglycerides</i>	F	P value	η^2
MOTHER	0.930	0.341	0.025
DIET	3.425	0.043	0.156
MOTHER * DIET	0.257	0.775	0.014

Table 6. Two-way ANOVA of Cholesterol and Triglyceride concentrations in plasma. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on the analysis of variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The green colour in the cell indicates that the difference is statistically significant.

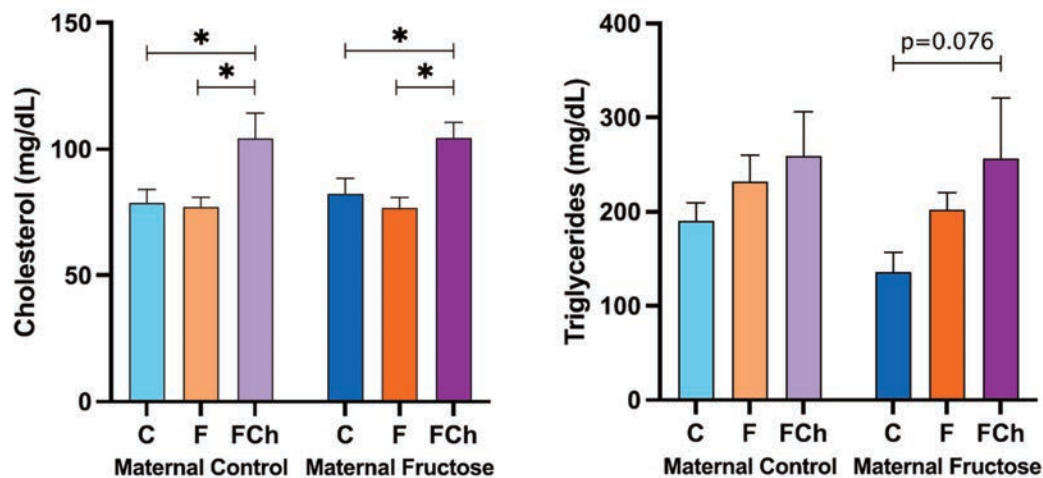


Figure 14. Plasma total cholesterol and triglycerides concentration in the male progeny, after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water–C, orange bar: fructose–F, purple bar: fructose + cholesterol-rich diet–FCh). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol * denotes statistically significant differences between diets.

(2.b. Plasma HDL cholesterol and non-HDL cholesterol concentration

As Table 7 indicates, there are statistically significant differences regarding the diet (D) of the male offspring for both HDL cholesterol and non-HDL cholesterol concentrations.

After performing *a posteriori* Bonferroni correction, the data of HDL cholesterol and non-HDL cholesterol concentrations can be seen in Figure 15.

The HDL cholesterol concentration shows significant decrease in the group supplemented with fructose and cholesterol (FCh) *versus* the group that drank water (C), regardless of the maternal intake. Since fructose alone already produced a tendency to a decrease in HDL-cholesterol in males from fructose-fed mothers (but not in the offspring from control mothers) (Figure 11), the diminution observed in the males receiving fructose plus cholesterol became

almost significant *versus* the males drinking fructose alone only in descendants from control mothers ($p=0.059$).

Interestingly, the trend found in the non-HDL cholesterol concentration is the opposite than the one found for HDL cholesterol, being significantly much higher in the FCh group than in the other two groups (C and F), regardless of the maternal diet.

These results, taken together with those shown in Figure 14, indicate that the distribution of HDL and non-HDL cholesterol levels deeply varies in the FCh group: this group of animals presents elevated plasma non-HDL cholesterol and lower HDL cholesterol concentrations in comparison to the other two groups, with also a higher total cholesterol concentration. This would indicate that a higher cholesterol intake by these rats produces an excess of cholesterol that is distributed in lipoproteins such as VLDL, chylomicrons and LDL.

Table 7

<i>HDL cholesterol</i>	F	P value	η^2
MOTHER	0.110	0.742	0.003
DIET	11.519	0.000	0.390
MOTHER * DIET	0.845	0.438	0.045
<i>non-HDL cholesterol</i>	F	P value	η^2
MOTHER	0.008	0.928	0.000
DIET	59.725	0.000	0.773
MOTHER * DIET	0.572	0.570	0.032

Table 7. Two-way ANOVA of plasma HDL and non-HDL cholesterol. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on analysis of the variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The green colour in the cell indicates that the difference is statistically significant.

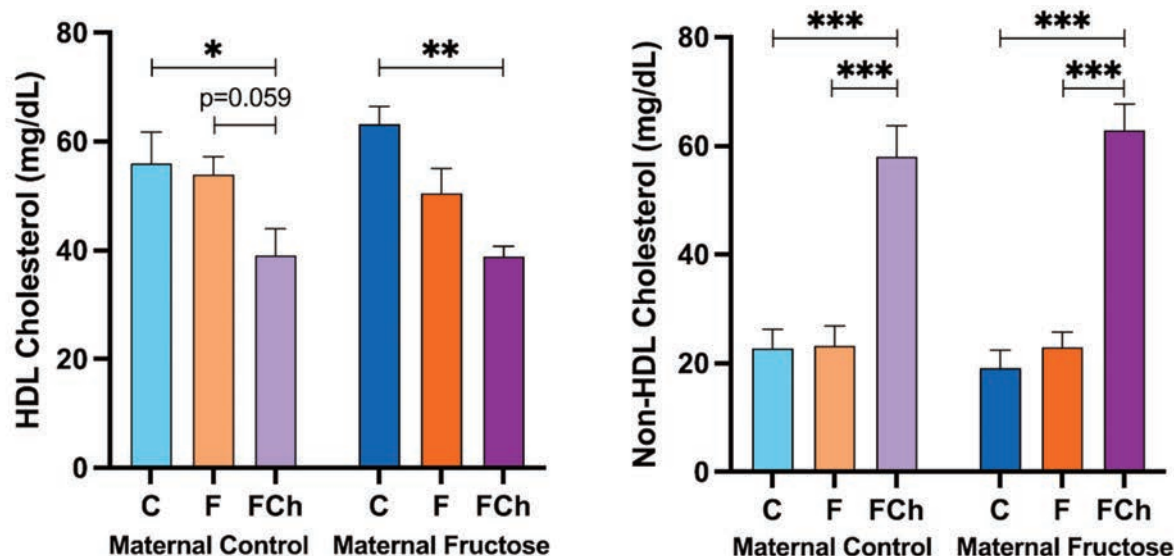


Figure 15. Plasma HDL cholesterol and non-HDL cholesterol concentration in the male progeny, after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water–C, orange bar: fructose–F, purple bar: fructose + cholesterol-rich diet–FCh). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol * denotes statistically significant differences between diets.

.....(2.c. Hepatic MTP, LDLR and SR-B1 expression

The Table 8 shows statistically significant differences in the expression of MTP and LDLR genes with regards to the diet of the male offspring ($p=0.015$ and $p=0.035$, respectively). In the case of SR-B1, this difference is almost significant ($p=0.082$).

Thus, Figure 16 shows the hepatic gene expression of MTP, LDLR and SR-B1.

Regarding the MTP hepatic expression, the trend to an increase already commented for descendants receiving fructose alone (Figure 12) was also found in the offspring taking fructose plus cholesterol with respect to the control groups, regardless the maternal intake. Given that the product of this gene is related to the assembly of lipoproteins containing cholesterol and triglycerides, the expression of this gene in the FCh group is increased in accordance with

Table 8

<i>MTP expression</i>	F	P value	η^2
MOTHER	1.172	0.287	0.033
DIET	4.759	0.015	0.219
MOTHER * DIET	0.039	0.962	0.002
<i>LDLR expression</i>	F	P value	η^2
MOTHER	0.001	0.973	0.000
DIET	3.696	0.035	0.170
MOTHER * DIET	0.612	0.548	0.033
<i>SR-B1 expression</i>	F	P value	η^2
MOTHER	1.992	0.167	0.052
DIET	2.684	0.082	0.130
MOTHER * DIET	1.772	0.185	0.090

Table 8. Two-way ANOVA of hepatic MTP, LDLR and SR-B1 expression. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on the analysis of variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The green colour in the cell indicates that the difference is statistically significant, while yellow represents that the difference is almost statistically significant.

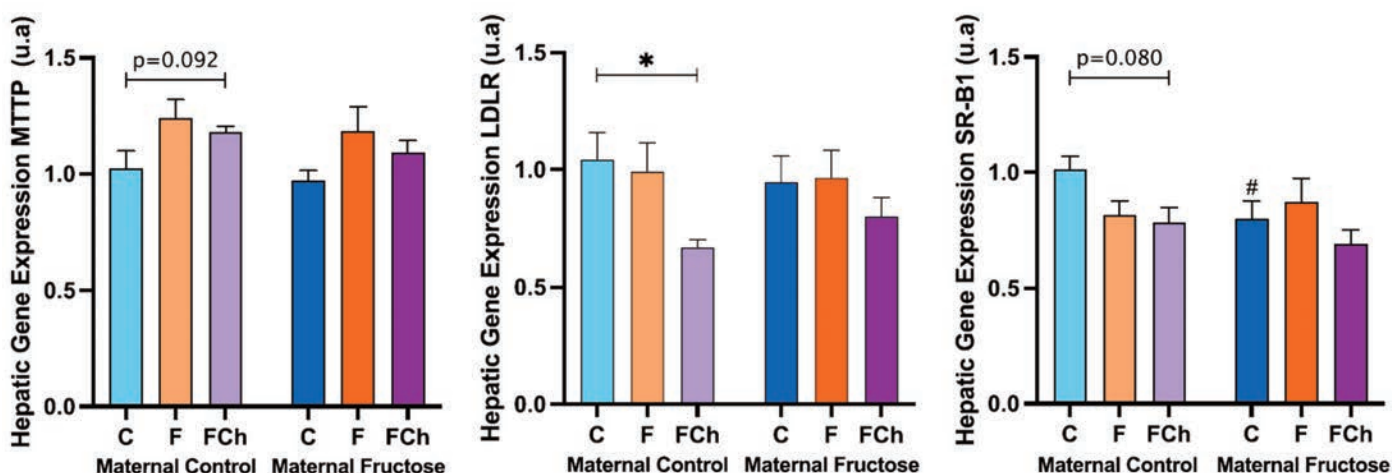


Figure 16. MTTP, LDLR and SR-B1 hepatic gene expression in the male progeny, after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water–C, orange bar: fructose–F, purple bar: fructose + cholesterol-rich diet–FCh). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol # represents statistically significant differences between maternal intakes.

total cholesterol concentration, triglycerides levels and especially the non-HDL cholesterol concentration in plasma.

The gene expression of hepatic LDLR exhibits a decreasing trend for the FCh group, the effect being significantly different *versus* males drinking only water when they come from control-mothers.

As the LDLR gene is associated with the uptake of non-HDL cholesterol from the blood into the liver, this result would correlate with the higher concentration of non-HDL cholesterol found in this group (Figure 15).

In addition, the SR-B1 gene expression also shows a slight decreasing trend between the control and FCh group in descendants from control mothers, but not in offspring from fructose-fed mothers.

Curiously, this trend had been already observed for males receiving fructose alone.

(.2.d. Coronary Risk Index (CRI) and Atherogenic Index of Plasma (AIP))

Table 9 indicates differences regarding the diet (D) for both indexes ($p=0.000$ for both) and also regarding the interaction of the diet of the male progeny and the maternal feeding for the Atherogenic Index of Plasma.

As shown in Figure 17, in the Coronary Risk Index, there are statistically significant differences between the FCh group and the other two groups: control and fructose, independently of maternal intake.

Table 9

<i>CRI</i>	F	P value	η^2
MOTHER	0.944	0.338	0.027
DIET	64.073	0.000	0.790
MOTHER * DIET	0.374	0.691	0.022
<i>AIP</i>	F	P value	η^2
MOTHER	6.824	0.013	0.167
DIET	14.202	0.000	0.455
MOTHER * DIET	3.229	0.052	0.160

Table 9. Two-way ANOVA of Coronary Risk Index and Atherogenic Index of Plasma. F: Snedecor's F, which is a statistic parameter based on the analysis of variance. P value: probability of observing a value which is at least as extreme as the value obtained from the test. η^2 : proportion of the variance that is attributed to the mother, the diet or the interaction between both. The green colour in the cell indicates that the difference is statistically significant.

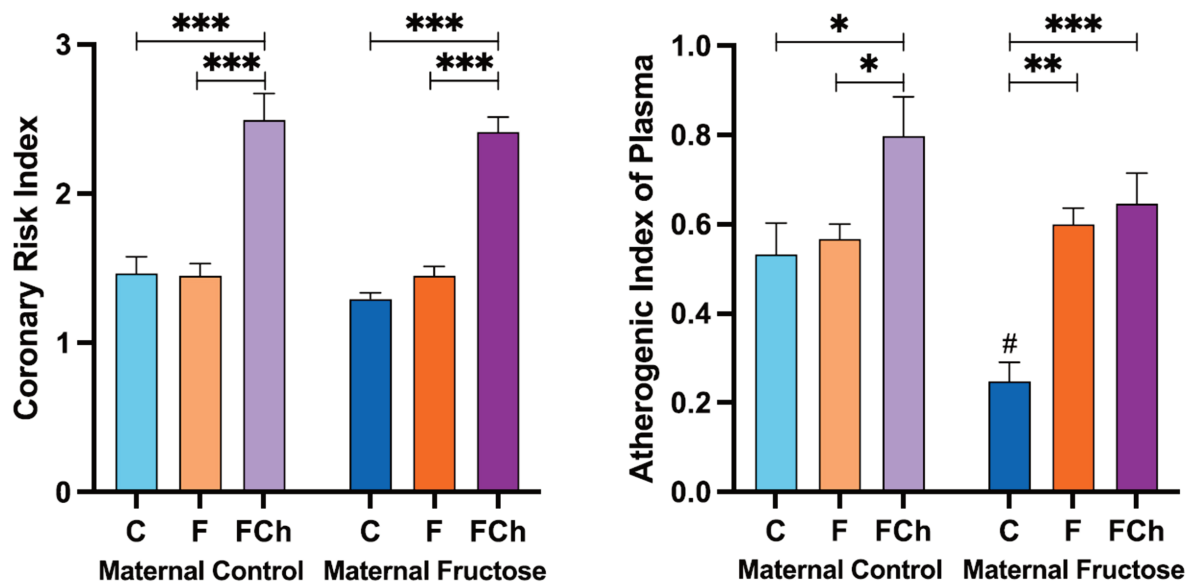


Figure 17. Coronary Risk Index and Atherogenic Index of Plasma obtained after calculation of with data from the samples obtained after 21 days of receiving different treatments (blue bar: water–C, orange bar: fructose–F, purple bar: fructose + cholesterol-rich diet–FCh). The bars that present a lighter colour correspond to the descendants of mothers that were given water during gestation (maternal control group), and the bars with a darker colour, to the descendants of mothers that drank a fructose solution during gestation (maternal fructose group). The data presented are means \pm standard error (SE). The symbol * denotes statistically significant differences between diets, and the # between maternal intakes.

Regarding the Atherogenic Index of Plasma, the same increase was found, being the difference statistically significant *versus* the other two groups only in the progeny from control mothers. Curiously, in descendants from fructose-fed mothers, fructose plus cholesterol intake was able to produce a significant increase with respect to the control group as that one observed with fructose intake.

5. CONCLUSIONS

The conclusions of the present study are:

- In the offspring of mothers that drank water during gestation, tagatose intake increases plasma non-HDL cholesterol and total cholesterol concentrations. This effect is attenuated in the progeny of fructose fed mothers, which would indicate a foetal programming effect.
- In the offspring from fructose-fed mothers, fructose and tagatose intake tends to cause a decrease in plasma HDL cholesterol and an increase in triglycerides concentration, leading to a marked rise in the atherogenic ratio *versus* the control group. These findings suggest that both fructose and tagatose intake can lead to a higher risk of cardiovascular diseases in animals subjected to foetal programming induced by previous maternal fructose feeding.
- The combination of a fructose solution plus a cholesterol-rich diet results in an increase in total plasma cholesterol concentration, which corresponds to a huge rise in non-HDL levels and a decrease in HDL concentration, regardless the maternal in-

take. This effect caused by fructose and cholesterol intake would be detrimental to the animals, since atherogenic indices are increased, and they will be more likely to undergo cardiovascular disease.

- The increased hepatic expression of MTP found in both, the F and FCh group would indicate a higher assembly of cholesterol and triglycerides containing lipoproteins, which correlates with the increased values of plasma total cholesterol, non-HDL cholesterol and triglycerides found in these rats.
- The decreased hepatic expression of LDLR observed in the FCh group would suggest a lower uptake of non-HDL lipoproteins leading to the higher plasma non-HDL cholesterol concentration observed in these animals.

Altogether, this study demonstrates that maternal intake of fructose clearly affects cholesterol metabolism in the progeny leading to a foetal programming effect. Furthermore, the dietary treatment of the progeny with fructose alone or combined with cholesterol and tagatose also negatively affects cholesterol metabolism increasing their atherogenic indices. These results demonstrate the deleterious effects of both, a high carbohydrate and cholesterol intake in the development of cardiovascular diseases. We would like to emphasize the key role of pharmacists advising the patients to reduce the consumption of diets rich in carbohydrates and cholesterol to prevent the further development of cardiovascular diseases.



6. CONFLICTS OF INTEREST

The Authors declare that there is no conflict of interest, and they accept all the rules and conditions of this Contest.

7. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Jose M. Garrido and his team for their help in handling the rats. This work was supported by grants from the Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) (SAF2017-89537-R and PID2020-118054RB-I00) and European Union FEDER funds. Elena Fauste was supported with a FPU fellowship from MICINN.

8. BIBLIOGRAPHY

1. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM (2004) Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:537–543.
2. Tappy L, Le KA (2010) Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological Reviews* 90:23–46.
3. White JS, Hobbs LJ, Fernandez S (2015) Fructose content and composition of commercial HFCS-sweetened carbonated beverages. *International Journal of Obesity* 39:176–182.
4. Lustig RH, Schmidt LA, Brindis CD (2012) Public health: The toxic truth about sugar. *Nature* 482:27–29
5. Ventura EE, Davis JN, Goran MI (2011) Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: Focus on fructose content. *Obesity* 19:868–874
6. Morenga L te, Mallard S, Mann J (2013) Dietary sugars and body weight: Systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies. *BMJ (Online)* 345:e7492-undefined
7. Welsh JA, Sharma A, Cunningham SA, Vos MB (2011) Consumption of added sugars and indicators of cardiovascular disease risk among US adolescents. *Circulation* 123:249–257
8. Stanhope KL, Medici V, Bremer AA, Lee V, Lam HD, Nunez M v., Chen GX, Keim NL, Havel PJ (2015) A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. *American Journal of Clinical Nutrition* 101:1144–1154
9. Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P (2004) The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutrition* 7:245–250
10. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, Gersch MS, Benner S, Sánchez-Lozada LG (2007) Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease 1-3. *American Journal of Clinical Nutrition* 86:899–906
11. Stanhope KL, Schwarz JM, Havel PJ (2013) Adverse metabolic effects of dietary fructose: Results from the recent epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *Current Opinion in Lipidology* 24:198–206
12. Saklayen MG (2018) The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports* 20:12–12.
13. Aydin S, Aksoy A, Aydin S, Kalayci M, Yilmaz M, Kuloglu T, Cital C, Catak Z (2014) Today's and yesterday's of pathophysiology: Biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition* 30:1–9.
14. Angelopoulos TJ, Lowndes J, Zukley L, Melanson KJ, Nguyen V, Huffman A, Rippe JM (2009) The effect of high-fructose corn syrup consumption on triglycerides and uric acid. *Journal of Nutrition* 139:1242–1245.
15. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, et al (2009) Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *Journal of Clinical Investigation* 119:1322–1334.
16. Goran MI, Ulijaszek SJ, Ventura EE (2013) High fructose corn syrup and diabetes prevalence: A global perspective. *Global Public Health* 8:55–64.
17. NASA (2004) A Natural Way to Stay Sweet.
18. Levin G v., Zehner LR, Saunders JP, Beadle JR (1995) Sugar substitutes: Their energy values, bulk characteristics, and potential health benefits. In: *American Journal of Clinical Nutrition*. pp 1161–1168
19. Food Ingredients First (2005) The European Union approves Tagatose as “novel food ingredient.”
20. Levin G v. (2002) Tagatose, the new GRAS sweetener and health product. *Journal of Medicinal Food* 5:23–36.
21. Saunders JP, Zehner LR, Levin G v. (1999) Disposition of D-[U-14C]tagatose in the rat. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 29:46–56.
22. Lu Y, Levin G v., Donner TW (2008) Tagatose, a new antidiabetic and obesity control drug. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 10:109–134.
23. Braunstein CR, Noronha JC, Khan TA, Mejia SB, Wolever TM, Josse RG, Kendall CW, Sievenpiper JL (2020) Effect of fructose and its epimers on postprandial carbohydrate metabolism: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Nutrition* 39:3308–3318.
24. Saunders JP, Donner TW, Sadler JH, Levin G v., Makris NG (1999) Effects of acute and repeated oral doses of D-tagatose on plasma uric acid in normal and diabetic humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 29:57–65.
25. Granström TB, Takata G, Tokuda M, Izumori K (2004) Izumoring: A



- novel and complete strategy for bioproduction of rare sugars. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 97:89–94.
26. Nelson DL, Cox MM (2013) Carbohydrates and Glycobiology. In: *Principles of Biochemistry*, 6th ed. W. H. Freeman and Company, New York, pp 244–undefined.
 27. Cheeseman CI (1993) GLUT2 is the transporter for fructose across the rat intestinal basolateral membrane. *Gastroenterology* 105:1050–1056.
 28. Bray GA (2008) Fructose: Should we worry? *International Journal of Obesity* 32:S127–S131.
 29. Adelman RC, Ballard FJ, Weinhouse S (1967) Purification and properties of rat liver fructokinase. *Journal of Biological Chemistry* 242:3360–3365.
 30. Mayes PA (1993) Intermediary metabolism of fructose. *American Journal of Clinical Nutrition* 58:754S–765S.
 31. Erkin-Cakmak A, Bains Y, Caccavello R, Noworolski SM, Schwarz JM, Mulligan K, Lustig RH, Gugliucci A (2019) Isocaloric Fructose Restriction Reduces Serum d-Lactate Concentration in Children with Obesity and Metabolic Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 104:3003–3011.
 32. Parks EJ, Skokan LE, Timlin MT, Dingfelder CS (2008) Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults. *Journal of Nutrition* 138:1039–1046.
 33. Carmona A, Freedland RA (1989) Comparison among the lipogenic potential of various substrates in rat hepatocytes: The differential effects of fructose-containing diets on hepatic lipogenesis. *Journal of Nutrition* 119:1304–1310.
 34. Koepsell H (2020) Glucose transporters in the small intestine in health and disease. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 472:1207–1248.
 35. Iynedjian PB (1993) Mammalian glucokinase and its gene. *Biochemical Journal* 293:1–13.
 36. Tornheim K, Lowenstein JM (1976) Control of phosphofructokinase from rat skeletal muscle. Effects of fructose diphosphate, AMP, ATP, and citrate. *Journal of Biological Chemistry* 251:7322–7328.
 37. Muddada S (2012) Tagatose: the multifunctional food ingredient and potential drug. *Journal of Pharmacy Research* 5:626–631.
 38. Nelson DL, Cox MM (2013) Cholesterol, Steroids, and Isoprenoids: Biosynthesis, Regulation, and Transport. In: *Principles of Biochemistry*, 6th ed. W. H. Freeman and Company, New York, pp 864–869.
 39. Mttp microsomal triglyceride transfer protein [*Rattus norvegicus* (Norway rat)].
 40. Kwon EJ, Kim YJ (2017) What is fetal programming?: A lifetime health is under the control of in utero health. *Obstetrics and Gynecology Science* 60:506–519.
 41. Fowden AL, Coan PM, Angiolini E, Burton GJ, Constancia M (2011) Imprinted genes and the epigenetic regulation of placental phenotype. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 106:281–288.
 42. Rodríguez L, Panadero MI, Rodrigo S, Roglans N, Otero P, Álvarez-Millán JJ, Laguna JC, Bocos C (2016) Liquid fructose in pregnancy exacerbates fructose-induced dyslipidemia in adult female offspring. *Journal of Nutritional Biochemistry* 32:115–122.
 43. Fauste E, Rodrigo S, Rodríguez L, Donis C, García A, Barbas C, Álvarez-Millán JJ, Panadero MI, Otero P, Bocos C (2020) FGF21-protection against fructose-induced lipid accretion and oxidative stress is influenced by maternal nutrition in male progeny. *Journal of Functional Foods* 64.
 44. Rodríguez L, Panadero MI, Roglans N, Otero P, Álvarez-Millán JJ, Laguna JC, Bocos C (2013) Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24:1709–1716.
 45. Yamazaki M, Yamada H, Munetsuna E, et al (2018) Excess maternal fructose consumption impairs hippocampal function in offspring via epigenetic modification of BDNF promoter. *FASEB Journal* 32:2549–2562.
 46. Rodrigo S, Fauste E, de la Cuesta M, Rodríguez L, Álvarez-Millán JJ, Panadero MI, Otero P, Bocos C (2018) Maternal fructose induces gender-dependent changes in both LXR α promoter methylation and cholesterol metabolism in progeny. *Journal of Nutritional Biochemistry* 61:163–172.
 47. Merck, Sigma Aldrich Universal SYBR Green qPCR Protocol.
 48. Michihara A, Anraku M, Abe A, Kinoshita H, Kamizaki Y, Tomida H, Akasaki K (2011) Comparison of receptors and enzymes regulating cholesterol levels in liver between SHR/NDmcr-cp rats and normotensive Wistar Kyoto rats at ten weeks of age. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 34:1116–1119.

Si desea citar nuestro artículo:

Maternal fructose intake modulates cholesterol metabolism in response to a Western diet in the offspring

Paloma López Laiz, Elena Fauste, et al.

An Real Acad Farm [Internet].

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 3 (2022) · pp. 257-275

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.03.01>

NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE EL PAPEL CLAVE DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA ENFERMEDAD DE HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICA

NEW INSIGHTS INTO THE KEY ROLE OF EXTRACELLULAR VESICLES IN NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Irma García-Martínez, Rosa Alén, Patricia Rada y Ángela M. Valverde

Facultad de Farmacia, Madrid, Spain

corresponding author: irmagarm@gmail.com

REVISIÓN

Trabajo ganador del Premio María Cascales del Concurso Científico de la RANF 2021

RESUMEN

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es la enfermedad hepática crónica más común del mundo. La EHGNA se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico al estar directamente asociada con la obesidad, la resistencia a la insulina, la diabetes mellitus tipo 2 y las complicaciones cardiovasculares. Pese a su prevalencia, los factores que desencadenan la progresión de la EHGNA a la esteatohepatitis no alcohólica, la cirrosis y el carcinoma hepatocelular son poco conocidos. Actualmente, no existe tratamiento eficaz ni hay disponible un método fiable para su diagnóstico y estratificación más allá de la biopsia hepática altamente invasiva.

Recientemente, las vesículas extracelulares (VEs) han emergido como posibles biomarcadores para el diagnóstico de la EHGNA. Las VEs son vesículas derivadas de las células que contienen proteínas y ácidos nucleicos, entre otros componentes, que interactúan y desencadenan una gran variedad de respuestas en células diana próximas o distantes. Varios mecanismos implicados en la progresión de la EHGNA, como la inflamación, la fibrosis y la angiogénesis, relacionados con la lipotoxicidad, desencadenan la secreción de VEs por las células hepáticas. En esta revisión nos centraremos en las VEs secretadas por los hepatocitos (Hep-VEs) como mensajeros del interactoma entre las diferentes células hepáticas en la patogénesis de la EHGNA, así como en su papel como biomarcadores no invasivos para su diagnóstico y estratificación. Además, destacaremos las investigaciones disponibles hasta la fecha, las limitaciones actuales y las futuras directrices para su implementación en un entorno clínico como biomarcadores o dianas terapéuticas de la enfermedad hepática.

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common cause of chronic liver disease worldwide. NAFLD, the hepatic manifestation of the metabolic syndrome, closely associates with insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, obesity and cardiovascular disease. Until now, the specific factors involved in the progression of NAFLD from fatty liver to non-alcoholic steatohepatitis, cirrhosis and, ultimately hepatocellular carcinoma have not been totally elucidated.

Also, patients have to face the lack of efficient or personalized treatments, as well as the absence of reliable diagnosis or staging methods beyond the highly invasive liver biopsy. In the last years, extracellular vesicles (VEs) are considered as potential biomarkers for the diagnosis many diseases including NAFLD. VEs are released by different cells types into the circulation and contain nucleic acids and proteins, among other components of their, that interact with surrounding or distant target cells, thereby triggering a plethora of responses. During NAFLD progression, several processes such as inflammation, fibrosis and angiogenesis, all related to MS-associated lipotoxicity, lead to VEs release by liver cells. In this review we will focus in the role of hepatocyte-derived VEs (Hep-VEs) and their interactions with non-parenchymal liver cells populations during NAFLD pathogenesis, as well as in their role as non-invasive biomarkers for disease diagnosis and progression. We will highlight the recent work currently available on VEs in the context of NAFLD, the current limitations and future directions for the implementation of VEs as biomarkers or targets of liver disease in the clinical setting.

Palabras Clave:

Enfermedad de hígado graso no alcohólico
hepatocito
lipotoxicidad
inflamación
comunicación intercelular
vesículas extracelulares
biomarcadores

Keywords:

Non-alcoholic fatty liver disease
hepatocyte
lipotoxicity
inflammation
intercellular communication
extracellular vesicles
biomarkers



1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es la enfermedad hepática crónica más común en el mundo, afectando aproximadamente al 25 % de la población adulta, especialmente en los países industrializados (1). Al mismo tiempo, la EHGNA es también la forma más prevalente de enfermedad hepática crónica en la infancia, afectando aproximadamente al 10 % de la población pediátrica general (2, 3). La definición clásica de la EHGNA excluye el consumo excesivo de alcohol, que causa la llamada enfermedad hepática alcohólica. Numerosas evidencias apoyan la hipótesis de que la EHGNA es la manifestación hepática del síndrome metabólico (SM), siendo la resistencia a la insulina el factor patogénico común entre ambas (4). Aunque se han descrito algunos factores genéticos como elementos de riesgo para la EHGNA (5), el aumento del peso corporal, así como la presencia de varias características del SM, como la adiposidad, la hiperglucemia, la dislipidemia o la hipertensión, pueden ser determinantes clave en la patogenia de la EHGNA.

La EHGNA engloba un amplio espectro de lesiones en el hígado, en el que se incluyen la esteatosis simple, la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), la fibrosis y finalmente la cirrosis. Se estima que alrededor de un 7% de estos pacientes en estadio cirrótico desarrollarán un carcinoma hepatocelular (CHC) que puede llegar a causar una insuficiencia hepática crónica y la necesidad de trasplante de hígado en aproximadamente el 50% de los casos. Mientras que en la esteatosis hepática simple no hay signos de daño hepatocelular ni de fibrosis, la EHNA se caracteriza por la presencia de esteatosis e inflamación lobulillar con degeneración balonzante de los hepatocitos, con o sin fibrosis (6, 7).

Los factores desencadenantes, así como los mecanismos asociados al desarrollo y la progresión de la EHGNA son complejos y multifactoriales. Originalmente, la "la teoría del doble impacto" se formuló para explicar la progresión de la esteatosis simple a la EHNA. Según esta visión tradicional, la acumulación intrahepática de lípidos provocada por el sedentarismo, las dietas hipercalóricas, la obesidad y la resistencia a la insulina, actúa como el "primer impacto" favoreciendo el aumento de la sensibilidad de los hepatocitos a sucesivos daños o agresiones. La acumulación de citoquinas proinflamatorias, adipoquinas, endotoxinas bacterianas, junto con la disfunción mitocondrial y a la aparición de estrés oxidativo y/o estrés del retículo endoplásmico (RE) representan el "segundo impacto" en la progresión hacia estadios más avanzados. Así, este segundo impacto provoca un efecto deletéreo en los hepatocitos, provocando mayor inflamación y fibrosis. Hoy en día, la hipótesis más aceptada es el "modelo de múltiples impactos" (8), ya que otros elementos adicionales como las hormonas/adipoquinas secretadas del tejido adiposo, diversos factores nutricionales, la mi-

crobiota intestinal y numerosos factores genéticos y epigenéticos también contribuyen en mayor o menor medida a la progresión de la enfermedad (9-13). A pesar de esta diferencia, la acumulación de grasa en el hígado, causada por la obesidad y la resistencia a la insulina, aún representa el primer impacto en ambas hipótesis. En el tejido adiposo, la resistencia a la insulina conduce a una lipólisis periférica excesiva, provocando la degradación de los triglicéridos (TG) y una acumulación masiva de ácidos grasos libres (AGL) y glicerol. En condiciones normales, los AGL circulantes son captados por los hepatocitos y de nuevo esterificados en TG. Sin embargo, una captación excesiva de AGL puede saturar la capacidad celular para almacenarlos y esterificarlos en TG, lo que conllevaría la acumulación masiva de AGL, provocando el daño celular (lipotoxicidad) y la muerte celular apoptótica (lipoapoptosis) de los hepatocitos, procesos fuertemente asociados con la progresión de la EHGNA a EHNA.

En la mayoría de los casos, la EHNA se desarrolla de forma asintomática hasta que la enfermedad progresa a etapas más avanzadas en las que el trasplante de hígado es la única opción terapéutica disponible. Por tanto, la detección temprana de esta enfermedad sería útil para identificar a aquellos individuos con EHGNA en estadios iniciales, donde la enfermedad es aún silenciosa. Solo en un reducido número de pacientes, se sospecha de enfermedad tras la detección de una elevación, que resulta difícil de explicar, de los niveles de enzimas hepáticas, tales como la fosfatasa alcalina, la alanina aminotransferasa (ALT) o la aspartato aminotransferasa (AST), o de alguna evidencia de esteatosis por imagen mediante tomografía computarizada y resonancia magnética (RM). No obstante, estas pruebas no permiten diferenciar la esteatosis simple de la EHNA con o sin fibrosis.

Por ello, hasta la fecha, la biopsia hepática sigue siendo el método más fiable para el diagnóstico de la EHGNA ya que permite clasificar el estado de la enfermedad por evaluación histológica. Sin embargo, este procedimiento altamente invasivo y dañino para el paciente no puede predecir la progresión de la enfermedad y a menudo, el diagnóstico es tardío.

Hasta ahora, la FDA (U.S. Food and Drug Administration) no ha aprobado ningún agente farmacológico para el tratamiento de la EHNA. Hoy en día, cambios en el estilo de vida y dietas para perder peso son la única estrategia para revertir la EHGNA. Desafortunadamente, se ha demostrado que un gran número de pacientes recuperan la mayor parte del peso después de un período de pérdida de peso exitoso, un efecto probablemente debido a la falta de disponibilidad de un programa multidisciplinar completo y personalizado centrado en el mantenimiento del peso corporal a largo plazo para cada paciente (14, 15). Por este motivo, existe una necesidad urgente de identificar biomarcadores no invasivos que sean fiables y específicos para el diagnóstico de la EHGNA y la



EHNA en las fases iniciales, donde las intervenciones en el estilo de vida y los posibles fármacos desarrollados se puedan utilizar con cierta garantía de éxito a largo plazo.

Hasta la fecha, se considera que la ausencia de un tratamiento eficaz para la EHGNA podría deberse a la heterogeneidad en los factores desencadenantes que presentan los pacientes provocados por la coexistencia de otras patologías asociadas como las enfermedades cardiovasculares (ECV) o la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Teniendo esto en consideración, recientemente ha surgido el término actualizado "MAFLD" (del inglés, *metabolic-dysfunction-associated fatty liver disease*), que significa en español enfermedad de hígado graso asociada a disfunción metabólica, para describir mejor la patogénesis de la EHGNA, definiéndose así como la manifestación hepática de un trastorno multisistémico que es heterogéneo en su origen, desarrollo y progresión (16, 17). De acuerdo con esta nueva definición, la EHGNA asociada a disfunción metabólica englobaría múltiples subtipos y se clasificaría en función del factor dominante. Según los artículos publicados, los criterios para el diagnóstico se basan en la evidencia de esteatosis hepática además de uno de los siguientes tres elementos, sobrepeso/obesidad, presencia de DM2 o evidencia de desregulación metabólica, independientemente de la cantidad de alcohol consumida. Así, la identificación de este factor predominante en cada paciente podría ayudar en su estratificación y podría permitir la implementación de un tratamiento personalizado para asegurar la mejor respuesta terapéutica con pocos efectos secundarios adversos.

Recientes avances en la investigación básica y traslacional han proporcionado información sobre los mecanismos patogénicos que impulsan la progresión de la EHGNA, involucrando a las células hepáticas parenquimales y no parenquimales (18). Los hepatocitos afectados tras un daño lipotóxico liberan moléculas intracelulares denominadas patrones moleculares asociados al daño (DAMPs, del inglés *damage-associated molecular patterns*) que activan varios tipos celulares, como las células de Kupffer (KCs, del inglés *Kupffer cells*) -los macrófagos residentes en el hígado-, los neutrófilos y las células estelares hepáticas, también llamadas células de Ito (HSC, del inglés *hepatic stellate cells*), provocando un aumento de la inflamación y de la fibrosis. Cabe destacar que la ubicación de las HSCs y KCs dentro del espacio de Disse facilita su contacto directo con otros tipos celulares, incluidos los hepatocitos y las células endoteliales sinusoidales hepáticas (LSECs, del inglés *liver sinusoidal endothelial cells*), promoviendo así el transporte intercelular de mediadores solubles y citoquinas. De acuerdo con esto, la progresión de EHNA a estadios más avanzados es el resultado de un interactoma intrahepático complejo entre los diferentes tipos celulares a través de diversos mediadores secretados, lo que ilustra la complejidad de la señalización célula-célula en la fisiología normal y patológica del hígado. Ante este escenario,

considerando a la EHGNA como una enfermedad multifactorial, no existe una única diana terapéutica para su tratamiento, lo que explica la falta de una terapia eficaz para la enfermedad.

2. PAPEL EMERGENTE DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA COMUNICACIÓN INTERCELULAR

Durante años se ha pensado que la comunicación intercelular estaba mediada únicamente por la interacción directa célula-célula o la secreción de factores solubles. Sin embargo, actualmente está ampliamente reconocido que las células son capaces también de secretar, de una manera conservada evolutivamente, diversos tipos de vesículas de membrana que constituyen una tercera variedad de comunicación intercelular. A estas vesículas se las conoce generalmente como vesículas extracelulares o "VEs" (19).

El término genérico "VE" comprende una población heterogénea de vesículas de tamaño nanométrico conformadas por una membrana de tipo bicapa lipídica que son liberadas por las células. Actualmente, las VEs se pueden clasificar en las siguientes tres categorías según su tamaño y biogénesis celular: exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos (19, 20). Brevemente, los exosomas son las vesículas más pequeñas (30-150 nm) y se originan como vesículas intraluminales (ILV, del inglés *intraluminal vesicles*) dentro de los cuerpos multivesiculares (MVB, del inglés *multivesicular bodies*) de la célula que por fusión con la membrana plasmática se liberan al espacio extracelular. Las microvesículas (50-1000 nm) y los cuerpos apoptóticos (100-5000 nm) son más grandes y se forman directamente por escisión de la membrana plasmática o por fragmentación de células apoptóticas, respectivamente. La Figura 1 muestra las características más comunes que se utilizan para diferenciar los diferentes subtipos de VEs.

Por otro lado, aunque la biogénesis de los exosomas y de las microvesículas ocurre en distintos sitios dentro de la célula, estas muestran una morfología y tamaño similar, y además comparten la maquinaria intracelular en su formación lo que hace difícil su diferenciación. Este hecho junto con la falta de estandarización tanto de los procedimientos de aislamiento como de los métodos para su caracterización complica en la actualidad el diseño de una nomenclatura más precisa (20, 21). En este contexto y dado que el número de publicaciones científicas en el campo ha aumentado exponencialmente en la última década (22), la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares (ISEV: www.isev.org) publicó en 2014 una guía con la información básica para los estudios con vesículas extracelulares (MISEV, del inglés *Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles*) (23) con el objetivo de unificar la nomenclatura y las metodologías utilizadas en todos los laboratorios. La "MISEV" fue actualizada en 2018 (24).

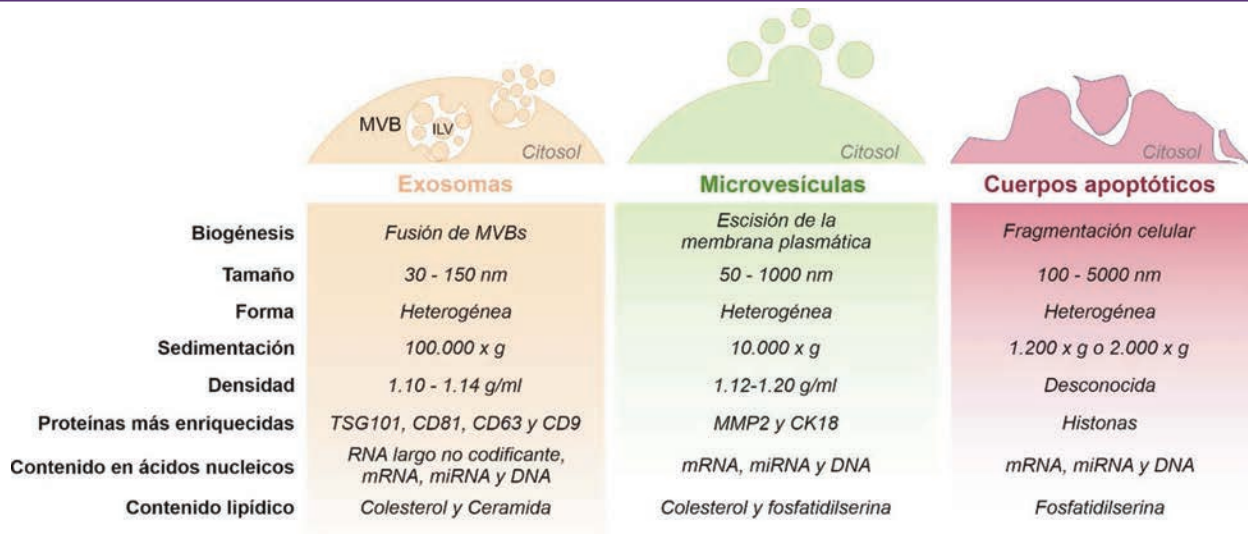


Figura 1. Clasificación y características representativas de los subtipos de vesículas extracelulares (VEs).

A pesar de que las VEs se describieron por primera vez en los años 80 (25, 26), es ahora cuando han cobrado interés en el campo de la investigación biomédica a causa del descubrimiento de su capacidad de transportar entre las células, moléculas bioactivas específicas como ácidos nucleicos (DNAs, RNAs y miRNAs), proteínas, lípidos, azúcares y otros metabolitos en respuesta a estímulos celulares concretos. Además, cabe destacar que, aunque se conoce que el proceso por el que se selecciona el cargo que formará parte de las EVs está altamente regulado, los mecanismos implicados siguen siendo aún en gran parte desconocidos (27). En consecuencia, cada tipo de célula podrá regular la producción de EVs tanto cuantitativa como cualitativamente dependiendo de su estado fisiológico o patológico, pudiendo secretar una misma célula poblaciones heterogéneas de VEs en función del estímulo (19, 20, 28).

Tras la secreción de las VEs al espacio extracelular, éstas pueden interactuar con células cercanas (comunicación célula-célula) o difundir por el torrente sanguíneo u otros fluidos biológicos para actuar sobre órganos distantes (comunicación entre órganos). En definitiva, las VEs transmitirán un paquete único de información desde la célula donadora a la célula receptora, capaz de desencadenar en ésta última, respuestas funcionales y promover cambios fenotípicos que afectarán finalmente a su estado fisiológico o patológico (19, 20). No obstante, las VEs necesitan acoplarse selectivamente a la membrana plasmática de sus células diana para desencadenar los efectos fenotípicos. Para ello, todas las VEs portan moléculas de superficie que les permiten ser reconocidas por las células receptoras y, de hecho, son varios los estudios que indican que los patrones de glicosilación de su superficie y los receptores y ligandos expuestos como por ejemplo, las integrinas, pueden ser relevantes para que las VEs se unan a las células diana y, por lo tanto, para su biodistribución (29, 30).

Finalmente, una vez unidas a su célula diana, las VEs pueden iniciar diversas vías de señalización intracelular mediante la simple interacción con receptores o ligandos de superficie. Por ejemplo, las VEs que portan ligandos de superficie como FasL, perforina o el ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL, del inglés tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) son completamente funcionales a la hora de inducir la apoptosis mediada por receptores de muerte (31-33). No obstante, la transferencia de su cargo mediante la internalización vesicular (endocitosis) o la fusión con la célula diana es generalmente necesaria para desencadenar respuestas celulares específicas. Las VEs pueden liberar dentro de la célula receptora las proteínas, los lípidos bioactivos o incluso las moléculas de señalización activas que contienen, incluidas enzimas, y activar múltiples vías de señalización. Además, las VEs también pueden transferir a las células huésped mRNA y miRNAs activos que regulan la expresión génica a nivel traduccional o producen modificaciones postraduccionales de mRNAs diana, respectivamente (20, 34).

La comunicación intercelular mediada por VEs es necesaria para el mantenimiento de la homeostasis celular y las funciones fisiológicas, mientras que las alteraciones en este proceso pueden indicar estados patológicos. El hecho de que el cargo de las VEs pueda modificarse en condiciones patológicas, plantea la pregunta de si las VEs podrían tener un papel biológico distinto en la salud o la enfermedad y, por tanto, ser una posible diana terapéutica en el tratamiento de diversas patologías. Además, debido a su cargo asociado a la enfermedad y a su presencia ubicua y estabilidad en los fluidos biológicos humanos, las VEs también pueden tener relevancia clínica como biomarcadores no invasivos para la detección temprana y el pronóstico de muchas enfermedades (35).



Por otro lado, las VEs ya sea sin modificaciones o manipuladas, también han generado una atención considerable en la comunidad científica debido a su uso potencial con fines terapéuticos (36). Las VEs son biodisponibles, biocompatibles y resistentes a las RNAsas y proteasas (37), características que las convierten en vehículos ideales para la administración de fármacos, proteínas, miRNA, RNAs silenciadores (siRNAs, del inglés silencing RNAs) y otras moléculas. Con respecto a las enfermedades hepáticas, el foco principal de esta revisión, los esfuerzos se han centrado en dos áreas principales, por un lado, el uso de las VEs como vehículos de administración de medicamentos directamente al hígado (38) y, por otro lado, el uso de las mismas VEs como agentes terapéuticos para estimular la regeneración hepática, modular la inflamación, reducir la fibrosis hepática o bloquear la hepatocarcinogénesis (39, 40). No obstante, aún deben resolverse múltiples desafíos antes de que se pueda llevar a cabo estudios clínicos controlados, sobre la estandarización de la metodología y la selección del tipo de VEs para la administración de fármacos (41, 42).

La identificación y el análisis de patrones moleculares específicos de células/tejidos son prometedores para fines diagnósticos, pronósticos y terapéuticos. La composición de proteínas tejido-específicas de las VEs brinda la oportunidad de identificar patrones celulares específicos para utilizarlos como marcadores de diagnóstico. Sin embargo, los métodos de cribado de proteínas comunes actualmente, como la electroforesis en geles bidimensionales y la espectrometría de masas, son técnicas que requieren mucho tiempo por lo que no son adecuados para un cribado de alto rendimiento cuando se manejan muchas muestras. Además, su sensibilidad y reproducibilidad pueden ser en algunos casos limitadas. En esta línea, Larsen y colaboradores demostraron que los ensayos de extensión de proximidad multiplex (PEA, del inglés proximity extension assays) son una herramienta poderosa de detección de proteínas en la investigación de las VEs (43). Esta tecnología permite la identificación, análisis y validación de posibles marcadores asociados a las VEs para identificar con alta especificidad y sensibilidad los perfiles de proteínas de las VEs de diferente origen. Es importante destacar que la capacidad de esta tecnología para rastrear el origen celular de las VEs podría extenderse a las VEs circulantes en plasma, facilitando estrategias de diagnóstico eficientes y no invasivas en etapas tempranas de enfermedad. Sin embargo, este estudio presenta una limitación y es el hecho de que los paneles PEA todavía no están disponibles para todas las células secretoras de VEs. Por tanto, se necesita más investigación y optimización de los PEA para su futuro uso en la detección en cohortes de pacientes mayores y en otros fluidos corporales.

Muchas evidencias respaldan el papel de las VEs en una amplia gama de enfermedades humanas, incluido el espectro de

enfermedades asociadas con la obesidad y el SM (44). Además, se ha reportado que el número y el fenotipo de las VEs circulantes en la sangre cambian en la obesidad y en los estados patológicos asociados, incluida la resistencia a la insulina, la DM2 y la EHGNA (45). Varios mecanismos implicados en la progresión de la EHGNA, como la inflamación, la fibrosis y la angiogénesis, todos ellos relacionados con la lipotoxicidad asociada al SM, desencadenan la producción y liberación de VEs en el hígado (45). Por un lado, las VEs median la comunicación intercelular local entre las células hepáticas, lo que impulsa la patogénesis de la enfermedad y, por otro lado, las VEs derivadas del hígado podrían afectar tejidos y órganos distantes tras su liberación al torrente sanguíneo. Por tanto, las VEs derivadas del hígado tienen alto potencial como biomarcadores para fines de diagnóstico y pronóstico en pacientes (46). Sin embargo, la identificación de VEs de origen hepático en la circulación como indicadores de alteraciones metabólicas en este órgano sigue siendo un desafío para los investigadores básicos y clínicos.

Como se ha mencionado previamente, la EHGNA no es una condición aislada y, en términos generales, esta enfermedad se presenta como una complicación de otros trastornos metabólicos. Por esta razón, pueden verse afectados múltiples tejidos y, en consecuencia, no se puede excluir la contribución de las VEs extrahepáticas durante la EHGNA, como por ejemplo las VEs derivadas de adipocitos o células inmunes. Además, la mayoría de las células hepáticas producen VEs, incluidos los hepatocitos, colangiocitos, HSC y LSEC (35). No obstante, como el 80% del volumen del hígado está compuesto por hepatocitos, su participación en el conjunto total de VEs hepáticas es probablemente la más relevante. Por ello, en esta revisión nos centraremos en las VEs derivadas de hepatocitos (Hep-VEs) como impulsores de la patogénesis de la EHGNA o biomarcadores no invasivos para su diagnóstico y pronóstico.

3. PAPEL DE LAS VES HEPÁTICAS EN LA EHGNA

La lipotoxicidad es uno de los desencadenantes de la progresión de la EHGNA, ya que es un proceso mediante el cual se acumulan lípidos tóxicos en los hepatocitos, como los AGL saturados, que activan las vías moleculares relacionadas con el estrés celular que pueden provocar la muerte celular (47, 48). En esta sección analizaremos diferentes estudios con evidencias sobre como la lipotoxicidad en los hepatocitos afecta, o incluso desencadena diversas respuestas de las células hepáticas circundantes a través de la liberación de Hep-VEs. Por otro lado, destacaremos los estudios actualmente disponibles sobre la participación de las Hep-VEs en las complicaciones asociadas a la EHGNA.

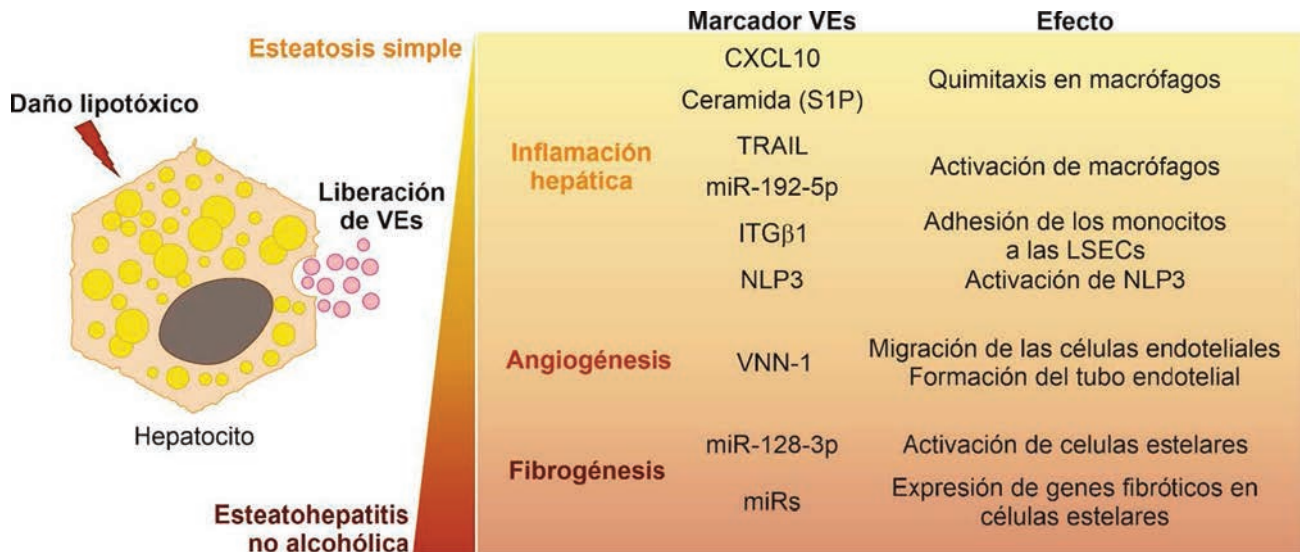


Figure 2. Eventos de señalización mediados por las vesículas extracelulares durante la lipotoxicidad de los hepatocitos.

3.1 Papel clave de las Hep-VEs en la progresión de EHNA a EHNA

Como hemos mencionado anteriormente, hay varios eventos clave estrechamente interconectados que están involucrados en la progresión de EHNA a EHNA tales como la inflamación, la fibrosis, la apoptosis de hepatocitos y la angiogénesis alterada. Todos estos signos están relacionados con la lipotoxicidad asociada al SM que desencadena la producción y liberación de VEs por el hígado (45). A continuación, revisaremos en detalle varios estudios que recopilan el papel de los Hep-VEs proinflamatorios, proangiogénicos y profibróticos como mediadores patogénicos durante la lipotoxicidad en la EHNA (Figura 2).

3.1.1 Hep-VEs implicadas en la inflamación del hígado

El reclutamiento de macrófagos en el hígado contribuye a la respuesta inflamatoria durante la EHNA (49). Sin embargo, no está claro cómo la lipotoxicidad de los hepatocitos promueve la quimiotaxis, la activación y la inflamación hepática de los macrófagos, siendo todos estos procesos patogénicos esenciales en la progresión de la EHNA.

Ibrahim y colaboradores demostraron que la señalización lipotóxica proapoptótica desencadenada por la "MLK3" (del inglés mixed lineage kinase 3) induce la liberación de Hep-VEs proinflamatorias enriquecidas en un potente ligando, el "CXCL10" (del inglés C-X-C motif chemokine ligand 10) que, a su vez, conduce a la quimiotaxis de los macrófagos al hígado pudiendo activar a las KCs durante la progresión de la EHNA (50). Además, los ratones deficientes en MLK3 alimentados con una dieta rica en grasas, fructosa y colesterol (dieta FFC, del inglés fat-, fructose- and cholesterol-enriched diet) estaban protegidos contra el desarrollo de esteatohepatitis. Este efecto beneficioso se asoció con una reducción en el número de VEs totales en plasma y VEs que contenían CXCL10 en

comparación con los ratones de tipo salvaje. En otro estudio, Kakazu y colaboradores demostraron que las Hep-VEs liberadas tras la estimulación con palmitato estaban enriquecidas en ceramida C16:0, una especie lipídica bioactiva generada a partir del palmitato (51). Los Hep-VEs enriquecidos con ceramida C16:0 se liberaban desde los hepatocitos dañados en respuesta a la lipotoxicidad, un efecto mediado por una proteína sensora de estrés en el RE, la "IRE1α" (del inglés, inositol requiring enzyme 1α). Las VEs inducidas por el tratamiento con palmitato además contenían esfingosina 1- fosfato (S1P, del inglés sphingosine 1-phosphate), un metabolito de la ceramida que activa su receptor en los macrófagos, por lo que también actuaban como quimioatrayentes de estos. Igualmente, estos autores evidenciaron un aumento de ceramida C16:0 en la sangre de ratones y humanos con EHNA. En resumen, estos datos proporcionan una asociación mecanística entre el estrés lipotóxico del RE y la patogénesis de la enfermedad a través de las VEs y sugieren que el contenido de ceramida C16:0 y S1P en las VEs podría usarse como biomarcador en pacientes con EHNA. En la misma línea, Hirsova y colaboradores publicaron que ante la sobrecarga de lípidos tóxicos, los hepatocitos pueden iniciar la cascada de señalización de la proteína homóloga C/EBP (CHOP, del inglés C/EBP homologous protein) /receptor de muerte 5 (DR5, del inglés death receptor 5)/caspasa-8/caspasa-3 que resulta en la activación de la proteína quinasa asociada a Rho 1 (ROCK1, del inglés Rho-associated protein kinase 1) y la liberación de VEs que expresan TRAIL en su superficie (31). Estas VEs al llevar TRAIL en su superficie eran capaces de activar macrófagos derivados de la médula ósea de ratón hacia un fenotipo inflamatorio (M1) a través de la señalización mediada por el factor nuclear κβ (NFκβ, del inglés nuclear factor-κβ). Los autores también demostraron que la liberación de Hep-VEs y, por lo tanto, la activación de los macrófagos disminuía al inactivar la vía de señalización de DR5 o al usar in-



hibidores de ROCK1. Asimismo, encontraron que la inhibición de ROCK1 en ratones con EHNA conducía a una reducción de los niveles de VEs circulantes lo que iba asociado a menor daño hepático, inflamación y fibrosis.

Por otro lado, Guo y colaboradores realizaron un estudio que proporciona datos sobre el mecanismo por el cual las Hep-VEs lipotóxicas pueden regular la adhesión de los monocitos de sangre periférica a las LSECs y su reclutamiento y retención en el hígado durante la EHNA (52). Estos autores descubrieron que la integrina b1 (ITGb1), una molécula de adhesión celular altamente expresada en los hepatocitos, juega un papel importante en la progresión de la EHNA. El daño lipotóxico en los hepatocitos activa la ITGb1 y facilita su tráfico endocítico y su liberación en VEs promoviendo así la adhesión de los monocitos a las LSEC, evento esencial en la inflamación hepática. También demostraron que el bloqueo de ITGb1 en ratones alimentados con una dieta FFC mejora la inflamación, las lesiones y la fibrosis del hígado. Por tanto, estos autores proponen que reducir la capacidad de las LSEC para reclutar monocitos proinflamatorios dañinos mediante la inhibición de ITGb1 puede servir como una estrategia terapéutica antiinflamatoria para combatir la EHNA. Por otro lado, Cannito y colaboradores probaron que las VEs secretadas por los hepatocitos cargados de grasa que experimentan lipotoxicidad pueden activar directamente el sistema inflamatorio "NLRP3" (del inglés, nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3) tanto en hepatocitos como en macrófagos, lo que resulta en la activación de la caspasa 1 y producción de pro-interleuquina-1 β (IL-1 β) y pro-interleuquina-18, lo que finalmente conduce a una liberación significativa de IL-1 β (53). Dado que se ha sugerido que la liberación de VEs por las células lipotóxicas y la posterior activación del inflamatorio NLRP3 contribuyen a la progresión de la EHNA, estos datos destacan la existencia de un novedoso vínculo entre la lipotoxicidad y las respuestas inflamatorias.

Cabe mencionar también el estudio reciente realizado por Liu y colaboradores que muestra que los hepatocitos lipotóxicos liberan exosomas enriquecidos en el miR-192-5p que activan a los macrófagos proinflamatorios y producen una inflamación hepática a través de la regulación negativa de la vía de señalización Rictor/Akt/FoxO1 (54). Además, en pacientes con EHNA, los niveles séricos de miR-192-5p se correlacionaron positivamente con la inflamación hepática y la progresión de la enfermedad. Igualmente, los niveles séricos de miR-192-5p y el número de macrófagos M1, así como los niveles de expresión de mediadores proinflamatorios hepáticos, se correlacionaron con la progresión de la enfermedad en la EHNA inducida por una dieta alta en grasas y colesterol (HFHCD, del inglés *high-fat, high-cholesterol diet*) en ratas. Por tanto, este estudio propone el miR-192-5p exosómico sérico como potencial biomarcador no invasivo y diana terapéutica para la EHNA.

3.1.2 Hep-VEs implicadas en la angiogénesis

La angiogénesis es una característica patológica de la EHNA y juega un papel central en la progresión de la enfermedad hacia estadios más avanzados. Sin embargo, los mecanismos moleculares y de señalización que inducen la angiogénesis, así como el vínculo potencial entre la lipotoxicidad y la angiogénesis, siguen sin entenderse completamente.

El estudio publicado por Povero y colaboradores nos proporciona evidencias de que los hepatocitos lipotóxicos sobrecargados de AGL saturados secretan señales proangiogénicas (55). Estos autores identificaron Hep-VEs cargadas con Vanin-1 (VNN1), una ectoenzima epitelial con propiedades reconocidas en la migración y adherencia celular, que inducían la migración de células endoteliales y la formación de tubos vasculares, dos procesos necesarios para la angiogénesis. Cabe destacar que las VEs secretadas por células HepG2 deficientes en VNN1 fracasaron en inducir la migración de células endoteliales y la formación de tubos endoteliales. Asimismo, la administración de siRNA dirigidos a VNN1 a ratones alimentados con una dieta deficiente en metionina y colina protegió contra la angiogénesis patológica inducida por la EHNA en el hígado. En conjunto, estos hallazgos describen un mecanismo que vincula la lipotoxicidad de los hepatocitos con la angiogénesis e identifica una potencial diana terapéutica para desarrollar nuevas estrategias antiangiogénicas para el tratamiento de la EHNA, así como un biomarcador circulante de daño hepático.

3.1.3 Hep-VEs implicadas en la fibrosis

Las HSCs desempeñan un papel crucial durante la fibrosis hepática en la EHNA avanzada (56). En el desarrollo de la esteatosis hepática, las HSCs se activan y expresan varios marcadores de fibrosis como el factor "TGF- β " (del inglés, *transforming growth factor β*), "TIMP-1" y "TIMP-2" (del inglés, *tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2*) y "MMP2" (del inglés, *matrix-metalloproteinase-2*) (57). Sin embargo, el desencadenante de la activación de las HSCs en la EHNA aún está siendo investigado. Los estudios que se mencionan a continuación sugieren que las VEs pueden desempeñar funciones importantes en la comunicación entre los hepatocitos y las HSCs durante la progresión de simple esteatosis a EHNA, y las identifican como posibles dianas moleculares para terapias antifibróticas.

En otro estudio Povero y colaboradores demuestran mediante la inducción genes profibrogénicos, como el colágeno-I, la α -actina del músculo liso y TIMP2, conjuntamente con respuestas de proliferación, quimiotaxis y cicatrización de heridas, que las VEs derivadas de hepatocitos cargados de lípidos se internalizan en las HSCs induciendo el cambio fenotípico de células quiescentes a activadas, paso necesario para el desarrollo de la fibrosis hepática (55). Estos autores además determinaron que estos cambios iban



asociados con la presencia del miR-128-3p como cargo de las VEs, el cual está descrito que regula la expresión de varias proteínas involucradas en la fibrosis hepática y la activación de las HSCs, así como la de "PPAR- γ " (del inglés, peroxisome proliferator-activated receptor gamma) el cual se ha propuesto con anterioridad como mediador en el mantenimiento de un fenotipo inactivo de las HSCs en el hígado normal (58). Es interesante señalar que la exposición de las HSCs a VEs carentes de miR-128-3p resultó en la regulación negativa de los marcadores profibrogénicos y en la regulación positiva de PPAR- γ . Igualmente, las VEs carentes de miR-128-3p atenuaron la proliferación y migración de las HSC. En esta misma línea, Lee y colaboradores demostraron que los hepatocitos tratados con ácido palmítico (PA, del inglés palmitic acid) liberaban más exosomas con un perfil de miRNAs alterado capaces de aumentar los niveles de expresión de genes profibróticos en las HSCs. Además, se confirmó que en los exosomas de células tratadas con PA, la expresión del miRNA-122, uno de los miRNAs más abundantes en el hígado (59, 60), aumentaba conjuntamente con la expresión del miRNA-192 también asociado con la progresión de la EHNA y la fibrosis (61, 62). Además, en el trabajo también se demuestra que la transfección directa del miRNA-192 en las HSCs aumentaba la expresión de marcadores de fibrosis. Por otro lado, los autores encontraron que la expresión de los miRNA-122 y miRNA-192 se veía incrementada en los exosomas circulantes de pacientes con EHGNA avanzada en comparación con aquellos pacientes en etapas tempranas de la enfermedad (63). Por tanto, en este artículo finalmente se sugiere que el perfil de miRNAs de los exosomas circulantes podría ser utilizado como biomarcador para el diagnóstico de EHGNA o EHNA avanzada.

En conclusión, estos estudios señalan la relevancia de las Hep-VEs en la modulación de las respuestas de las células no parenquimales del hígado, incluidas las LSECs, las HSCs y las KCs, en un modelo de múltiples impactos que finalmente resulta en la progresión acelerada de la EHGNA.

3.2 Hep-VEs y complicaciones asociadas a la EHGNA

El efecto nocivo de la EHGNA no solo está limitado al daño de la función hepática en los procesos metabólicos y de detoxificación entre otros, sino que también proporciona un riesgo independiente para el desarrollo de aterosclerosis y otras ECV relacionadas, que suponen la principal causa de muerte de estos pacientes (64). Aunque las evidencias clínicas relacionan la EHGNA y la ECV, aún es necesario describir los mecanismos moleculares subyacentes. Jiang y colaboradores (65) han sido pioneros en abordar el papel potencial que desempeñan las Hep-VEs en la inflamación endotelial y la aterogénesis en el contexto de la EHGNA. Estos autores proponen el miR-1 como mediador del efecto proinflamatorio de las VEs ya que induce la regulación negativa del fac-

tor "KLF4" (del inglés, *Kruppel-like factor 4*), un regulador transcripcional de la homeostasis vascular, y la activación de la vía mediada por el factor de transcripción NF- κ B en las células endoteliales. Además, la inhibición del miR-1 con un antagonista específico en un modelo animal de aterosclerosis con hígado graso, (ratones deficientes en ApoE alimentados con una dieta alta en grasa (HFD, del inglés *high fat diet*)), conseguía suprimir el crecimiento de las células del músculo liso vascular, estabilizó las placas aterogénicas y redujo la inflamación endotelial, lo que en conjunto conducía a una notable mitigación en la formación de la placa aterogénica. Este estudio proporciona una evidencia convincente que implica a las Hep-VEs en la comunicación entre el hígado y la vasculatura en la EHGNA, y también describe un mecanismo molecular subyacente en el desarrollo de la enfermedad cardiometabólica.

Tal como se ha mencionado previamente, la esteatosis hepática a través de la acumulación aberrante de TG en los hepatocitos, constituye el primer impacto en el desarrollo de la EHGNA. La comunicación entre tejidos con importante función metabólica como el hígado y el tejido adiposo regula la distribución de TGs en el organismo, lo cual es fundamental para mantener la homeostasis metabólica (66). Un estudio reciente sugiere que, en el contexto de la sobrecarga de lípidos, el hígado se comunica con el tejido adiposo a través de VEs que contienen miRNAs específicos (67). Los autores proponen un mecanismo de comunicación entre órganos donde el hígado en respuesta a la sobrecarga de lípidos envía la señal al tejido adiposo de modular adaptaciones metabólicas con el objetivo de contrarrestar el excesivo depósito de lípidos e impulsar la redistribución de TGs para mantener la homeostasis sistémica. A nivel molecular, el trabajo responsabiliza a una enzima de la vía del mevalonato, la "GGPPS" (del inglés, geranylgeranyl diphosphate synthase) importante en la regulación de la homeostasis de la glucosa y la sensibilidad a la insulina, en la secreción de Hep-VEs que contienen los miRNAs específicos. Además, en este estudio se demuestra que la expresión de Ggpps inducida por el consumo agudo y crónico de una dieta HFD permite la geranylgeranilación de la Rab-GTPasa Rab27A que, a su vez, aumenta la secreción de VEs. Entre los miRNAs de estas VEs se encuentra let-7e-5p que aumenta el almacenamiento de lípidos en los adipocitos mediante el incremento de la lipogénesis y la inhibición de la oxidación de lípidos a través del eje alet-7e-5p-Pgc1 α . Además, este fenómeno se inhibe en ratones deficientes para Ggpps en el hígado como consecuencia de una secreción disminuida de Hep-VEs. Por tanto, este estudio sugiere la existencia de un eje de señalización tejido adiposo-hígado mediado por Hep-VEs que podría ser necesario en las adaptaciones metabólicas de los adipocitos en respuesta a la sobrecarga de lípidos con el fin de mantener la homeostasis sistémica durante la EHGNA.



4. VES CIRCULANTES COMO BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DE LA EHGNA

Como se ha indicado con anterioridad, la biopsia hepática sigue siendo el procedimiento empleado en el diagnóstico, la estratificación y el seguimiento de los pacientes con EHGNA. Sin embargo, esta es cara, altamente invasiva e inexacta debido a errores en la toma de la muestra y, además, conlleva cierta morbilidad y un, aunque poco común, riesgo de mortalidad. En conjunto, todas estas características convierten a la biopsia hepática en inadecuada para su uso rutinario en personas con riesgo de EHGNA (68, 69). Es importante señalar que la falta de rastreo sistemático de la EHGNA ha conducido a un infradiagnóstico masivo de pacientes que progresan hacia una EHNA avanzada o cirrosis, etapas más graves e irreversibles de la enfermedad.

Actualmente, se están utilizando varios métodos no invasivos en la práctica clínica para evaluar la EHGNA con el fin de mitigar la necesidad de la biopsia hepática. Estos incluyen técnicas de imagen como la RM y la elastografía basada en ultrasonido, y el análisis de las enzimas hepáticas séricas como marcadores subyacentes a la inflamación y función hepática. No obstante, estas técnicas carecen de sensibilidad y especificidad suficiente para la detección de las primeras etapas de la EHGNA y no siempre se correlacionan con la gravedad o extensión de la lesión y/o inflamación hepatocelular (70, 71). Los marcadores ideales de la enfermedad deberían reflejar no solo la presencia de EHGNA, sino también su gravedad, lo que es vital para el diagnóstico temprano y la adecuada estratificación de la enfermedad (45). Esta utilidad diagnóstica podría proyectarse además en un tratamiento temprano de la EHGNA dirigido a disminuir la incidencia de EHNA y cirrosis.

En este contexto, las VEs circulantes pueden representar un biomarcador sanguíneo no invasivo óptimo proporcionando una biopsia líquida para el diagnóstico de la EHGNA (35). La Tabla 1 recoge los posibles biomarcadores propuestos basados en las VEs para el diagnóstico de la EHGNA.

Hoy día se han descrito varios biomarcadores basados en proteínas de las VEs para el daño hepático de la EHGNA (72), EHNA (31, 50) o CHC (73-76), aunque hasta la fecha la mayoría de los estudios se han centrado en caracterizar los ácidos nucleicos asociados a las VEs, especialmente los miRNAs y particularmente en el CHC (77-80). Además de su utilidad en el reconocimiento de neoplasias malignas del hígado, los miRNAs asociados a las VEs también pueden servir como biomarcadores en enfermedades hepáticas no malignas como la fibrosis inducida por la EHNA (81). Además, debido a las interacciones específicas entre las VEs y las células/tejido diana, los biomarcadores de las VEs basados en lípidos también podrían ser importantes en el diagnóstico de la EHGNA, aunque

menos del 3% de los lípidos circulantes se transportan en las VEs (82). Los únicos datos disponibles en este área se muestran en el estudio antes mencionado realizado por Kakazu y colaboradores que muestra un aumento de las VEs enriquecidas en ceramida C16:0 en ratones y humanos con EHNA (51). No obstante, las VEs circulantes son heterogéneas y no reflejan exclusivamente la contribución específica del hígado. Las VEs extrahepáticas pueden, de hecho, enmascarar las VEs derivadas del hígado que, en última instancia, como hemos revisado, tienen un papel relevante en la patogénesis de la EHGNA. Por tanto, la identificación de marcadores específicos del hígado en las VEs podría facilitar la detección de cargos poco abundantes que generalmente no se detectan, proporcionando así información directa sobre la progresión de la enfermedad, la recuperación y la respuesta al tratamiento. En este contexto, el enriquecimiento de las VEs basado en marcadores específicos del hígado, seguido del análisis del cargo podría representar una buena estrategia para el descubrimiento de biomarcadores en la EHGNA.

4.1 VEs circulantes de origen hepático

Uno de los primeros estudios en abordar este desafío fue realizado por Povero y colaboradores en modelos murinos experimentales de EHGNA inducida por dieta. Los autores observaron que los niveles de VEs circulantes incrementaban con el tiempo durante la progresión de la EHNA y se correlacionaban con varias características histológicas como muerte celular, angiogénesis y fibrosis (83). De acuerdo con hallazgos previos de otros grupos (84, 85), en un análisis posterior, Povero y colaboradores revelaron que las VEs circulantes aisladas de ratones con EHGNA estaban enriquecidas en miR-122 y miR-192, dos miRNAs expresados abundantemente en los hepatocitos. De acuerdo con estos resultados, propusieron que los hepatocitos eran probablemente la principal fuente de VEs circulantes, concluyendo que los Hep-VEs circulantes aumentaban en ratones con EHGNA (83). Lee y colaboradores validaron posteriormente los miR-122 y miR-192 asociados a VEs como biomarcadores de la progresión de la EHNA en sueros de pacientes con EHGNA (63). No obstante, las Hep-VEs, como se señaló anteriormente, también estaban enriquecidas en la enzima VNN-1, que promovió la angiogénesis e indujo daño hepático durante la EHNA, por lo que representa otro biomarcador potencial (55). Además, en el estudio de Liu y colaboradores que se ha mencionado también se observó un incremento de Hep-VEs y de miR-192-5p asociado a las VEs en el suero en otro modelo de EHGNA basado en ratas alimentadas con dieta HFHCD y en pacientes con EHNA, proponiendo por tanto el miR-192-5p como otro biomarcador (54). En un estudio anterior, encontramos que las VEs circulantes derivadas de hepatocitos que contienen DNA mitocondrial (mitoDNA) también aumentaron en el plasma tanto de ratones



como de pacientes con EHNA y, lo que es más importante, este trabajo implicó a las VEs en la activación de los macrófagos que estaba mediada por el receptor tipo toll 9 (TLR9, del inglés toll-like receptor 9) (86).

Brodsky y colaboradores abordaron un enfoque distinto a la hora de identificar las VEs de origen hepático en la circulación (87). Los autores aislaron las VEs circulantes enriquecidas en proteínas de origen hepático en pacientes con CHC mediante citometría

Tabla 1. Vesículas extracelulares como biomarcadores de la enfermedad de hígado graso no alcohólica (EHGNA).

Tipo	Origen	EHNA	Cirrosis	Fibrosis	CHC
Basados en proteínas	Hepatocitos	ASGPR1, CXCL10 (P, Mm) CYP2E1 (S, Mm)		CK18 (P, Hs)	Hep Par1 (P, Hs)
	Macrófagos	Gal3 (P, Mm)			
	Neutrófilos	Ly6G (P, Mm)			
	Leucocitos	Cd14, iNKT (P, Hs)			
	Desconocido	VNN-1, ASGR1 (P, Mm) CYP2E1 (S, Mm)			Epcam, Cd133, ASGR1, PIGR, LG3BP (S, Hs) ANXA2 (P, Hs)
Basados en ácidos nucleicos	Hepatocitos	miR-192-5p (S, Rn y Hs) iR-122, miR-192 (S y P, Mm) MitoDNA (P, Hs y Mm)			
	Desconocido		miR-214 (S, Mm)		↑ miR-21 ↓ miR-718 ↑ miR-18a, miR-221, miR-222, miR-224 ↓ miR-101, miR-106b, miR-122, miR-195 ↑ miR-939, miR-595, y miR-519d (S, Hs)
Basados en lípidos	Desconocido	Ceramida (P, Mm y Hs) S1P (P, Mm)			

ANXA2, Annexin A2; ASGR1, asialoglycoprotein receptor 1; CCN2, connective tissue growth factor; CD133, cluster of differentiation 133; CD14, cluster of differentiation 14; CHC, carcinoma hepatocelular; CK18, cytokeratin 18; CXCL10, C-X-C motif chemokine ligand 10; CYP2E1, cytochrome P450 family 2 subfamily E member 1; EHNA, esteatohepatitis no alcohólica; EpCAM, epithelial cell adhesion molecule; Gal3, galectin 3; H, humanos; Hep Par 1, hepatocyte paraffin 1; iNKT, invariant natural killer T; LG3BP, galectin-3-binding protein; Ly6G, lymphocyte antigen complex locus G; miR, mature form of the miRNA; Mm, mus musculus P, plasma PIGR, polymeric immunoglobulin receptor; S, suero S1P, sphingosine 1 phosphate; sPTPRG, soluble protein tyrosine phosphatase receptor gamma; Rn, Rattus norvegicus; VNN1, vanin-1.



de flujo e inmunomarcaje contra la carbamoil fosfato sintetasa 1 con el anticuerpo monoclonal "Hep Par 1" (del inglés, hepatocyte paraffin 1), utilizado rutinariamente como marcador tisular del CHC. En este estudio encontraron que los niveles aumentados de las VEs circulantes derivadas de hígado en pacientes con CHC se correlacionaban positivamente con el tamaño de los tumores hepáticos. También se estudiaron las VEs de origen endotelial y se encontró la misma correlación (87). En esta línea, más recientemente Li y colaboradores identificaron las VEs derivadas de los hepatocitos utilizando citometría de flujo a nanoescala, técnica que detecta marcadores de superficie selectivos de los hepatocitos en las VEs como el receptor de asialoglicoproteína 1 (ASGR1, del inglés asialoglycoprotein receptor 1) y el citocromo "CYP2E1" (del inglés, cytochrome P450 family 2 subfamily E member 1) (88). Al emplear esta tecnología, se encontró un incremento en las Hep-VEs en ratones macho y hembra en una etapa temprana de la EHGNA (12 y 10 semanas de alimentación con dieta FFC) antes de la apreciación histológica de la inflamación, y permanecieron elevadas con el tiempo (24, 36 y 48 semanas). También se analizaron las VEs derivadas de macrófagos y neutrófilos debido al importante papel del sistema inmune en la EHNA. Las VEs derivadas de macrófagos y neutrófilos se elevaron significativamente a las 24 semanas de alimentación con dieta FFC concomitante con la inflamación histológica en el hígado. Además, las VEs derivadas de hepatocitos, macrófagos y neutrófilos se correlacionaron fuertemente con la evaluación histológica de la EHNA y los biomarcadores de EHNA no invasivos basados en RM. También se cuantificaron las VEs derivadas de plaquetas que mostraron un dimorfismo sexual, ya que estaban elevadas en ratones macho a las 12, 24 y 48 semanas de dieta FFC, mientras que en ratones hembra solo se encontraron elevaciones a las 24 semanas (88). Este trabajo constituye el primer informe descriptivo de los cambios cinéticos en las VEs derivadas de hepatocitos, macrófagos, neutrófilos y plaquetas en un modelo de ratón con EHNA.

4.2 VEs circulantes derivadas de células inmunes

Con respecto al papel del sistema inmunológico en la progresión de la EHGNA, es importante destacar el estudio pionero de diagnóstico de la EHGNA en pacientes basado en las VEs publicado por Kornek y colaboradores (89). Estos autores propusieron por primera vez la existencia de una correlación entre la abundancia en circulación de las VEs específicas derivadas de leucocitos y la gravedad de la enfermedad, determinada por los niveles de transaminasas hepáticas y el grado de biopsia (en inglés NAFLD activity score). Hasta la fecha, estos hallazgos aún representan el estudio más convincente con muestras clínicas para el diagnóstico y la estratificación de la EHGNA basada en las VEs. De manera consistente, este estudio ha sido confirmado recientemente por Welsh y colabo-

radores quienes también reportaron las VEs derivadas de leucocitos como un marcador de la gravedad de la fibrosis hepática en la EHGNA (90). Cabe mencionar que Kornek y colaboradores también observaron que los pacientes con hepatitis C crónica podrían diferenciarse de los pacientes con EHNA utilizando las VEs derivadas de las células inmunes (89). Esta evidencia ha sido respaldada por otro estudio en el que el análisis transcriptómico reveló que los miRNAs derivados de las VEs en el suero estaban regulados positiva o negativamente de acuerdo a las características histológicas de la enfermedad, como la inflamación y fibrosis, diferenciando así múltiples etiologías de enfermedad hepática (91). En otro estudio, se analizaron tanto las Hep-VEs circulantes como las VEs derivadas de células inmunes (92). Se encontró que las VEs derivadas de hepatocitos o de origen mielóide aumentaban en los pacientes con cirrosis en comparación con los individuos sanos. En pacientes con cirrosis, las Hep-VEs plasmáticas contenían niveles elevados de citoqueratina 18 (CK18) en comparación con las de individuos sanos. Además, la gravedad de la cirrosis se correlacionó con los niveles de VEs leuco-endoteliales y Hep-VEs (92).

En conjunto, todos estos estudios han establecido una base sólida para el descubrimiento de biomarcadores basados en las VEs para el diagnóstico de la EHGNA. Sin embargo, debido a las notables limitaciones actuales, todavía queda un largo camino por recorrer antes de que las investigaciones con las VEs tengan utilidad traslacional. Además de la especificidad de la enfermedad y el tejido, la falta de una estandarización de los métodos para el aislamiento de las VEs y las directrices relacionadas con la recolección y el manejo de muestras, pueden interferir con el análisis posterior, lo que genera una alta variabilidad que complica la reproducibilidad y validación de las VEs como biomarcadores (35, 45).

5. CONCLUSIONES

En esta revisión, hemos resumido algunos de los estudios más recientes y originales que investigan el papel clave de las VEs liberadas por hepatocitos dañados (Hep-VEs) al dirigirse a células no parenquimales como las HSCs, LSECs y macrófagos. Este interactoma vincula la lipotoxicidad con la inflamación y la angiogénesis, eventos relevantes en la progresión de la EHGNA a EHNA. Además, compilamos varios estudios sobre el interés creciente de las Hep-VEs liberadas a la circulación sistémica como posibles biomarcadores para el diagnóstico y la estratificación de la EHGNA. Sin embargo, aún se necesitan más estudios que examinen los mecanismos moleculares adicionales involucrados en la biogénesis y liberación de las VEs y las alteraciones que causan en las células diana, así como la identificación de cargos con valor potencial como biomarcadores para el diagnóstico no invasivo y el seguimiento de la progresión de la enfermedad.



6. ABREVIATURAS

AGLs, ácidos grasos libres; ASGR1, del inglés asialoglycoprotein receptor 1; CHC, carcinoma hepatocelular; CHOP, del inglés C/EBP homologous protein; CK18, citoqueratina 18; CXCL10, del inglés C-X-C motif chemokine ligand 10; CYP2E1, del inglés cytochrome P450 family 2 subfamily E member 1; DAMPs, del inglés damage-associated molecular patterns; DR5, del inglés death receptor 5; D2M, diabetes mellitus tipo 2; ECV, enfermedad cardiovascular; EHGNA, enfermedad de hígado graso no alcohólica; EHNA, esteatohepatitis no alcohólica; FFC diet, del inglés fat-, fructose- and cholesterol-enriched diet; GGPPS, del inglés geranylgeranyl diphosphate synthase; Hep-VEs, VEs derivadas de hepatocitos; Hep Par 1, del inglés hepatocyte paraffin 1; HFD, del inglés high fat diet; HFHCD, del inglés high-fat, high-cholesterol diet; HSCs, del inglés hepatic stellate cells; IRE1 α , del inglés inositol requiring enzyme 1 α ; ITGB1, integrina β 1; IL-1 β , interleuquina-1 β ; ILV, del inglés intraluminal vesicle; KCs, del inglés Kupffer cells; KLF4, del inglés Kruppel-like factor 4; LSECs, del inglés liver sinusoidal endothelial cells; miR, del inglés mature form of the miRNA; MISEV, del inglés Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles; mitoDNA, DNA mitocondrial; MLK3, del inglés mixed lineage kinase 3; MMP2, del inglés, matrix-metalloproteinase-2; MVBs, del inglés multivesicular bodies; NLRP3, del inglés nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3; NF κ B, del inglés nuclear factor- κ B; PA, del inglés palmitic acid; PPAR- γ , del inglés peroxisome proliferator-activated receptor gamma; RE, retículo endoplásmico; RM, resonancia magnética; ROCK1, del inglés rho-associated protein kinase 1; STP, del inglés sphingosine 1-phosphate; TGF- β , del inglés transforming growth factor β ; TG, triglicéridos; TIMP, del inglés tissue inhibitor of metalloproteinases; TLR9, del inglés toll-like receptor 9; TRAIL, del inglés tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand; VEs, del inglés extracellular vesicles; VNN1, vanin-1.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que este artículo de revisión se llevó a cabo en la ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera suponer un potencial conflicto de interés.

7. REFERENCIAS

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84.
2. Fitzpatrick E, Dhawan A. Childhood and Adolescent Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Is It Different from Adults? *J Clin Exp Hepatol*. 2019;9(6):716-22.
3. Berardis S, Sokal E. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: an increasing public health issue. *Eur J Pediatr*. 2014;173(2):131-9.
4. Mundi MS, Velapati S, Patel J, Kellogg TA, Abu Dayyeh BK, Hurt RT. Evolution of NAFLD and Its Management. *Nutr Clin Pract*. 2020;35(1):72-84.
5. Sookoian S, Pirola CJ. Genetic predisposition in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2017;23(1):1-12.
6. Adams LA, Ratziu V. Non-alcoholic fatty liver - perhaps not so benign. *J Hepatol*. 2015;62(5):1002-4.
7. Pai RK. NAFLD Histology: a Critical Review and Comparison of Scoring Systems. *Current Hepatology Reports*. 2019;18(4):473-81.
8. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016;65(8):1038-48.
9. Tsochatzis EA, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ. Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm*. 2009;2009:831670.
10. Spencer MD, Hamp TJ, Reid RW, Fischer LM, Zeisel SH, Fodor AA. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology*. 2011;140(3):976-86.
11. Ahrens M, Ammerpohl O, von Schonfels W, Kolarova J, Bens S, Itzel T, et al. DNA methylation analysis in nonalcoholic fatty liver disease suggests distinct disease-specific and remodeling signatures after bariatric surgery. *Cell Metab*. 2013;18(2):296-302.
12. Kirpich IA, Marsano LS, McClain CJ. Gut-liver axis, nutrition, and non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem*. 2015;48(13-14):923-30.
13. Tilg H, Burcelin R, Tremaroli V. Liver tissue microbiome in NAFLD: next step in understanding the gut-liver axis? *Gut*. 2020.
14. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(25 Pt B):2985-3023.
15. Montesi L, El Ghoch M, Brodosi L, Calugi S, Marchesini G, Dalle Grave R. Long-term weight loss maintenance for obesity: a multidisciplinary approach. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2016;9:37-46.
16. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol*. 2020.
17. Eslam M, Sanyal AJ, George J, International Consensus P. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1999-2014 e1.
18. Arrese M, Cabrera D, Kalergis AM, Feldstein AE. Innate Immunity



- and Inflammation in NAFLD/NASH. *Dig Dis Sci*. 2016;61(5):1294-303.
19. Yanez-Mo M, Siljander PR, Andreu Z, Zavec AB, Borrás FE, Buzas EI, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles*. 2015;4:27066.
 20. van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018;19(4):213-28.
 21. Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavie G, Thery C. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nat Cell Biol*. 2019;21(1):9-17.
 22. Wang Y, Wang Q, Wei X, Shao J, Zhao J, Zhang Z, et al. Global scientific trends on exosome research during 2007-2016: a bibliometric analysis. *Oncotarget*. 2017;8(29):48460-70.
 23. Lotvall J, Hill AF, Hochberg F, Buzas EI, Di Vizio D, Gardiner C, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles. *J Extracell Vesicles*. 2014;3:26913.
 24. Thery C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7(1):1535750.
 25. Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol*. 1983;97(2):329-39.
 26. Pan BT, Teng K, Wu C, Adam M, Johnstone RM. Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes. *J Cell Biol*. 1985;101(3):942-8.
 27. Anand S, Samuel M, Kumar S, Mathivanan S. Ticket to a bubble ride: Cargo sorting into exosomes and extracellular vesicles. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*. 2019;1867(12):140203.
 28. Lasser C, Jang SC, Lotvall J. Subpopulations of extracellular vesicles and their therapeutic potential. *Mol Aspects Med*. 2018;60:1-14.
 29. Hoshino A, Costa-Silva B, Shen TL, Rodrigues G, Hashimoto A, Tesic Mark M, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*. 2015;527(7578):329-35.
 30. Menck K, Scharf C, Bleckmann A, Dyck L, Rost U, Wenzel D, et al. Tumor-derived microvesicles mediate human breast cancer invasion through differentially glycosylated EMMPRIN. *J Mol Cell Biol*. 2015;7(2):143-53.
 31. Hirsova P, Ibrahim SH, Krishnan A, Verma VK, Bronk SF, Werneburg NW, et al. Lipid-Induced Signaling Causes Release of Inflammatory Extracellular Vesicles From Hepatocytes. *Gastroenterology*. 2016;150(4):956-67.
 32. Lugini L, Cecchetti S, Huber V, Luciani F, Macchia G, Spadaro F, et al. Immune surveillance properties of human NK cell-derived exosomes. *J Immunol*. 2012;189(6):2833-42.
 33. Cai Z, Yang F, Yu L, Yu Z, Jiang L, Wang Q, et al. Activated T cell exosomes promote tumor invasion via Fas signaling pathway. *J Immunol*. 2012;188(12):5954-61.
 34. Mulcahy LA, Pink RC, Carter DR. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *J Extracell Vesicles*. 2014;3.
 35. Szabo G, Momen-Heravi F. Extracellular vesicles in liver disease and potential as biomarkers and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(8):455-66.
 36. Murphy DE, de Jong OG, Brouwer M, Wood MJ, Lavie G, Schiffelers RM, et al. Extracellular vesicle-based therapeutics: natural versus engineered targeting and trafficking. *Exp Mol Med*. 2019;51(3):1-12.
 37. Johnsen KB, Gudbergsson JM, Skov MN, Pilgaard L, Moos T, Duroux M. A comprehensive overview of exosomes as drug delivery vehicles - endogenous nanocarriers for targeted cancer therapy. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1846(1):75-87.
 38. Villa F, Quarto R, Tasso R. Extracellular Vesicles as Natural, Safe and Efficient Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics*. 2019;11(11).
 39. Balaphas A, Meyer J, Sadoul R, Morel P, Gonelle-Gispert C, Buhler LH. Extracellular vesicles: Future diagnostic and therapeutic tools for liver disease and regeneration. *Liver Int*. 2019;39(10):1801-17.
 40. Borrelli DA, Yankson K, Shukla N, Vilanilam G, Ticer T, Wolfram J. Extracellular vesicle therapeutics for liver disease. *J Control Release*. 2018;273:86-98.
 41. Gao J, Dong X, Wang Z. Generation, purification and engineering of extracellular vesicles and their biomedical applications. *Methods*. 2020;177:114-25.
 42. Momen-Heravi F, Balaj L, Alian S, Mantel PY, Halleck AE, Trachtenberg AJ, et al. Current methods for the isolation of extracellular vesicles. *Biol Chem*. 2013;394(10):1253-62.
 43. Larssen P, Wik L, Czarnecki P, Eldh M, Lof L, Ronquist KG, et al. Tracing Cellular Origin of Human Exosomes Using Multiplex Proximity Extension Assays. *Mol Cell Proteomics*. 2017;16(3):502-11.
 44. Samuelson I, Vidal-Puig AJ. Fed-EXosome: extracellular vesicles and cell-cell communication in metabolic regulation. *Essays Biochem*. 2018;62(2):165-75.
 45. Ban LA, Shackel NA, McLennan SV. Extracellular Vesicles: A New Frontier in Biomarker Discovery for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2016;17(3):376.
 46. Masyuk AI, Masyuk TV, Larusso NF. Exosomes in the pathogenesis, diagnostics and therapeutics of liver diseases. *J Hepatol*. 2013;59(3):621-5.
 47. Ibrahim SH, Hirsova P, Gores GJ. Non-alcoholic steatohepatitis pathogenesis: sublethal hepatocyte injury as a driver of liver inflammation. *Gut*. 2018;67(5):963-72.
 48. Hirsova P, Ibrahim SH, Gores GJ, Malhi H. Lipotoxic lethal and su-



- blethral stress signaling in hepatocytes: relevance to NASH pathogenesis. *J Lipid Res.* 2016;57(10):1758-70.
49. Miura K, Yang L, van Rooijen N, Ohnishi H, Seki E. Hepatic recruitment of macrophages promotes nonalcoholic steatohepatitis through CCR2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012;302(11):G1310-21.
 50. Ibrahim SH, Hirsova P, Tomita K, Bronk SF, Werneburg NW, Harrison SA, et al. Mixed lineage kinase 3 mediates release of C-X-C motif ligand 10-bearing chemotactic extracellular vesicles from lipotoxic hepatocytes. *Hepatology.* 2016;63(3):731-44.
 51. Kakazu E, Maurer AS, Yin M, Malhi H. Hepatocytes release ceramide-enriched proinflammatory extracellular vesicles in an IRE1 α -dependent manner. *J Lipid Res.* 2016;57(2):233-45.
 52. Guo Q, Furuta K, Lucien F, Gutierrez Sanchez LH, Hirsova P, Krishnan A, et al. Integrin beta 1-enriched extracellular vesicles mediate monocyte adhesion and promote liver inflammation in murine NASH. *J Hepatol.* 2019;71(6):1193-205.
 53. Cannito S, Morello E, Bocca C, Foglia B, Benetti E, Novo E, et al. Microvesicles released from fat-laden cells promote activation of hepatocellular NLRP3 inflammasome: A pro-inflammatory link between lipotoxicity and non-alcoholic steatohepatitis. *PLoS One.* 2017;12(3):e0172575.
 54. Liu XL, Pan Q, Cao HX, Xin FZ, Zhao ZH, Yang RX, et al. Lipotoxic Hepatocyte-Derived Exosomal miR-192-5p Activates Macrophages via Rictor/Akt/FoxO1 Signaling in NAFLD. *Hepatology.* 2019.
 55. Povero D, Eguchi A, Niesman IR, Andronikou N, de Mollerat du Jeu X, Mulya A, et al. Lipid-induced toxicity stimulates hepatocytes to release angiogenic microparticles that require Vanin-1 for uptake by endothelial cells. *Sci Signal.* 2013;6(296):ra88.
 56. McKee C, Sigala B, Soeda J, Mouralidarane A, Morgan M, Mazzocchi G, et al. Amphiregulin activates human hepatic stellate cells and is upregulated in non alcoholic steatohepatitis. *Sci Rep.* 2015;5:8812.
 57. Wobser H, Dorn C, Weiss TS, Amann T, Bollheimer C, Buttner R, et al. Lipid accumulation in hepatocytes induces fibrogenic activation of hepatic stellate cells. *Cell Res.* 2009;19(8):996-1005.
 58. Marra F, Efsen E, Romanelli RG, Caligiuri A, Pastacaldi S, Batignani G, et al. Ligands of peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulate profibrogenic and proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *Gastroenterology.* 2000;119(2):466-78.
 59. Jopling C. Liver-specific microRNA-122: Biogenesis and function. *RNA Biol.* 2012;9(2):137-42.
 60. Castoldi M, Vujic Spasic M, Altamura S, Elmen J, Lindow M, Kiss J, et al. The liver-specific microRNA miR-122 controls systemic iron homeostasis in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(4):1386-96.
 61. Pirola CJ, Fernandez Gianotti T, Castano GO, Mallardi P, San Martino J, Mora Gonzalez Lopez Ledesma M, et al. Circulating microRNA signature in non-alcoholic fatty liver disease: from serum non-coding RNAs to liver histology and disease pathogenesis. *Gut.* 2015;64(5):800-12.
 62. Becker PP, Rau M, Schmitt J, Malsch C, Hammer C, Bantel H, et al. Performance of Serum microRNAs -122, -192 and -21 as Biomarkers in Patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142661.
 63. Lee YS, Kim SY, Ko E, Lee JH, Yi HS, Yoo YJ, et al. Exosomes derived from palmitic acid-treated hepatocytes induce fibrotic activation of hepatic stellate cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):3710.
 64. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2010;363(14):1341-50.
 65. Jiang F, Chen Q, Wang W, Ling Y, Yan Y, Xia P. Hepatocyte-derived extracellular vesicles promote endothelial inflammation and atherogenesis via microRNA-1. *J Hepatol.* 2020;72(1):156-66.
 66. Azzu V, Vacca M, Virtue S, Allison M, Vidal-Puig A. Adipose Tissue-Liver Cross Talk in the Control of Whole-Body Metabolism: Implications in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2020.
 67. Zhao Y, Zhao MF, Jiang S, Wu J, Liu J, Yuan XW, et al. Liver governs adipose remodelling via extracellular vesicles in response to lipid overload. *Nat Commun.* 2020;11(1):719.
 68. Sumida Y, Nakajima A, Itoh Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(2):475-85.
 69. Sanyal AJ, Friedman SL, McCullough AJ, Dimick-Santos L, American Association for the Study of Liver D, United States F, et al. Challenges and opportunities in drug and biomarker development for nonalcoholic steatohepatitis: findings and recommendations from an American Association for the Study of Liver Diseases-U.S. Food and Drug Administration Joint Workshop. *Hepatology.* 2015;61(4):1392-405.
 70. Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM, Bodenheimer HC, Public Policy Committee of the American Association for the Study of Liver D. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology.* 2008;47(4):1363-70.
 71. Eguchi A, Feldstein AE. Extracellular vesicles in non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Liver Res.* 2018;2(1):30-4.
 72. Moratti E, Vezzalini M, Tomasello L, Giavarina D, Sorio C. Identification of protein tyrosine phosphatase receptor gamma extracellular domain (sPTPRG) as a natural soluble protein in plasma. *PLoS One.* 2015;10(3):e0119110.
 73. Taleb RSZ, Moez P, Younan D, Eisenacher M, Tenbusch M, Sitek B, et al. Quantitative proteome analysis of plasma microparticles for the characterization of HCV-induced hepatic cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Proteomics Clin Appl.* 2017;11(11-12).
 74. Arbelaz A, Azkargorta M, Krawczyk M, Santos-Laso A, Lapitz A, Perugorria MJ, et al. Serum extracellular vesicles contain protein biomarkers



- for primary sclerosing cholangitis and cholangiocarcinoma. *Hepatology*. 2017;66(4):1125-43.
75. Abbate V, Marcantoni M, Giuliante F, Vecchio FM, Gatto I, Mele C, et al. HepPar1-Positive Circulating Microparticles Are Increased in Subjects with Hepatocellular Carcinoma and Predict Early Recurrence after Liver Resection. *Int J Mol Sci*. 2017;18(5).
 76. Julich-Haertel H, Urban SK, Krawczyk M, Willms A, Jankowski K, Patkowski W, et al. Cancer-associated circulating large extracellular vesicles in cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2017;67(2):282-92.
 77. Wang H, Hou L, Li A, Duan Y, Gao H, Song X. Expression of serum exosomal microRNA-21 in human hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int*. 2014;2014:864894.
 78. Sugimachi K, Matsumura T, Hirata H, Uchi R, Ueda M, Ueo H, et al. Identification of a bona fide microRNA biomarker in serum exosomes that predicts hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Br J Cancer*. 2015;112(3):532-8.
 79. Sohn W, Kim J, Kang SH, Yang SR, Cho JY, Cho HC, et al. Serum exosomal microRNAs as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Exp Mol Med*. 2015;47:e184.
 80. Fornari F, Ferracin M, Trevisan D, Milazzo M, Marinelli S, Galassi M, et al. Circulating microRNAs, miR-939, miR-595, miR-519d and miR-494, Identify Cirrhotic Patients with HCC. *PLoS One*. 2015;10(10):e0141448.
 81. Chen L, Chen R, Kemper S, Charrier A, Brigstock DR. Suppression of fibrogenic signaling in hepatic stellate cells by Twist1-dependent microRNA-214 expression: Role of exosomes in horizontal transfer of Twist1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2015;309(6):G491-9.
 82. Watt MJ, Miotto PM, De Nardo W, Montgomery MK. The Liver as an Endocrine Organ-Linking NAFLD and Insulin Resistance. *Endocr Rev*. 2019;40(5):1367-93.
 83. Povero D, Eguchi A, Li H, Johnson CD, Papouchado BG, Wree A, et al. Circulating extracellular vesicles with specific proteome and liver microRNAs are potential biomarkers for liver injury in experimental fatty liver disease. *PLoS One*. 2014;9(12):e113651.
 84. Bala S, Petrasek J, Mundkur S, Catalano D, Levin I, Ward J, et al. Circulating microRNAs in exosomes indicate hepatocyte injury and inflammation in alcoholic, drug-induced, and inflammatory liver diseases. *Hepatology*. 2012;56(5):1946-57.
 85. Csak T, Bala S, Lippai D, Satishchandran A, Catalano D, Kodys K, et al. microRNA-122 regulates hypoxia-inducible factor-1 and vimentin in hepatocytes and correlates with fibrosis in diet-induced steatohepatitis. *Liver Int*. 2015;35(2):532-41.
 86. Garcia-Martinez I, Santoro N, Chen Y, Hoque R, Ouyang X, Caprio S, et al. Hepatocyte mitochondrial DNA drives nonalcoholic steatohepatitis by activation of TLR9. *J Clin Invest*. 2016;126(3):859-64.
 87. Brodsky SV, Facciuto ME, Heydt D, Chen J, Islam HK, Kajstura M, et al. Dynamics of circulating microparticles in liver transplant patients. *J Gastrointest Liver Dis*. 2008;17(3):261-8.
 88. Li J, Liu H, Maurer AS, Lucien F, Raiter A, Bandla H, et al. Characterization of Cellular Sources and Circulating Levels of Extracellular Vesicles in a Dietary Murine Model of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology*. 2019;3(9):1235-49.
 89. Kornek M, Lynch M, Mehta SH, Lai M, Exley M, Afdhal NH, et al. Circulating microparticles as disease-specific biomarkers of severity of inflammation in patients with hepatitis C or nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2012;143(2):448-58.
 90. Welsh JA, Scorletti E, Clough GF, Englyst NA, Byrne CD. Leukocyte extracellular vesicle concentration is inversely associated with liver fibrosis severity in NAFLD. *J Leukoc Biol*. 2018;104(3):631-9.
 91. Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, Kumada T, Yoshioka Y, et al. Comprehensive miRNA expression analysis in peripheral blood can diagnose liver disease. *PLoS One*. 2012;7(10):e48366.
 92. Rautou PE, Bresson J, Sainte-Marie Y, Vion AC, Paradis V, Renard JM, et al. Abnormal plasma microparticles impair vasoconstrictor responses in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*. 2012;143(1):166-76 e6.

Si desea citar nuestro artículo:

Nuevos conocimientos sobre el papel clave de las vesículas extracelulares en la enfermedad de hígado graso no alcohólica

Irma García-Martínez, Rosa Alén, Patricia Rada y Ángela M. Valverde

An Real Acad Farm [Internet].

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 3 (2022) · pp

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.03.02>

CAMBIOS EN EL ESTILO DE VIDA DURANTE EL CONFINAMIENTO POR LA PANDEMIA DE SARS-COV-2 EN EUROPA: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

LIFESTYLE CHANGES DURING THE SARS-COV-2 PANDEMIC CONFINEMENT IN EUROPE: A SYSTEMATIC REVIEW

Amelia Martí del Moral¹⁻³ y **Natalia Vázquez Bolea**¹

¹Departamento de Ciencias de la Alimentación y Fisiología, Facultad de Farmacia y Nutrición. Universidad de Navarra, Pamplona 31008.

²IdiSNA, Instituto Navarro de Investigación Sanitaria, Pamplona 31008, Navarra.

³Centro de Investigación Biomédica en Red Área de Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición (CIBERObn), Instituto de Salud Carlos III, Madrid 28029.

corresponding author: amarti@unav.es

REVISIÓN

RESUMEN

A principios de 2020 comenzó la propagación de la pandemia por el virus SARS-CoV-2. Por la extensión y rapidez de contagio, se declaró un confinamiento domiciliario más o menos estricto dependiendo del gobierno de cada país. El objetivo principal de este artículo es realizar una revisión sistemática para analizar los cambios en el estilo de vida debidos al confinamiento en sujetos sanos mayores de 18 años de 9 países de Europa. Se realiza una revisión sistemática atendiendo a los criterios PRISMA. Para la búsqueda se emplea la base de datos "PubMed" basándose en la siguiente estrategia de búsqueda: "dietary changes" OR "lifestyle changes" AND "covid-19" OR "covid-19 lockdown" AND adults. Finalmente se incluyen 12 artículos. La mayoría de los estudios muestran un aumento en la ingesta energética, de dulces, picoteo y de alcohol. Los niveles de actividad física disminuyeron. Estos hábitos poco saludables han generado un aumento del peso corporal. Por ende, el confinamiento parece que ha modificado el estilo de vida en poblaciones europeas con cambios desfavorables para la salud en el estilo de vida. Se necesitan estudios a largo plazo y con mayor tamaño muestral para valorar mejor el impacto de la pandemia y mejorar las recomendaciones de estilo de vida en caso de futuras pandemias.

ABSTRACT

In early 2020, the SARS-CoV-2 pandemic began to spread. Due to the extent and quickness of infection, a more or less strict confinement was declared, depending on each country's government. Therefore, the main objective of this systematic review is to study the changes in lifestyle that occurred during the lockdown due to the COVID-19 pandemic in healthy subjects over 18 years old in 9 European countries. A systematic review was performed according to PRISMA criteria. The "PubMed" database was used for the search; with the following advanced search strategy: "dietary changes" OR "lifestyle changes" AND "covid-19" OR "covid-19 lockdown" AND adults. Finally, 12 articles were included. Most studies showed an increase in energy intake, sweets, snacks and alcohol. Physical activity levels diminished. These unhealthy habits have led to an increase in body weight. Thus, COVID-19 lockdown appears to have modified lifestyle habits in European population. Further research should be done with larger sample sizes to assess the impact of the pandemic and to improve lifestyle recommendations in case of future pandemics.

Palabras Clave:

covid-19
cuarentena
dieta
estilo de vida

Keywords:

covid-19
quarantine
diet
lifestyle



1. INTRODUCCIÓN

A partir de diciembre de 2019, cuando se diagnosticaron los primeros casos de un nuevo coronavirus en Wuhan, China, la propagación del SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) progresó rápidamente. El 11 de marzo de 2020 la enfermedad por COVID-19 fue caracterizada como pandemia mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1). Dos años después de su inicio, se han diagnosticado más de 640 millones de casos a nivel mundial, entre los cuales 6 millones han fallecido; ascendiendo a 1.8 millones de defunciones en Europa (2). Un mayor índice de masa corporal, así como la presencia de enfermedades cardiovasculares o diabetes mellitus tipo 2 se ha asociado con un mayor riesgo de hospitalización, mayores complicaciones y muerte por el coronavirus (3), todas ellas relacionadas con el estilo de vida (4).

En vista de esta situación y como medida para bajar la curva de contagios, se adoptaron medidas drásticas en numerosos países (5), como se muestra en la tabla 1. Una de las medidas que se tomó fue la de decretar un confinamiento domiciliario, para evitar

la libre circulación de personas y disminuir así el contacto entre individuos. De esta forma, en algunos países como Italia o España sólo se permitía salir a la calle por motivos de salud, laborales o de urgencia, mientras que en otros como fue el caso de Austria, Bélgica, Francia, Holanda o Inglaterra, se permitía salir al exterior a practicar actividad física.

La alimentación es fundamental para mantener un estilo de vida saludable y prevenir enfermedades. Una dieta sana según la Organización Mundial de la Salud es primordial para evitar procesos infecciosos víricos y para el buen funcionamiento del sistema inmune (6). Las vitaminas A, B6, B12, C, D y E, así como zinc, hierro, selenio, magnesio y cobre son beneficiosos para ello. Además, los ácidos grasos omega-3 contienen propiedades antiinflamatorias y son óptimas para evitar afecciones respiratorias (7), mientras que los alimentos procesados y ultra procesados no poseen beneficio alguno para el sistema inmunitario (8).

Por otro lado, el ejercicio físico es otro de los pilares fundamentales para llevar un estilo de vida saludable. Según la OMS, las personas mayores de 18 años deben realizar al menos entre "150 y 300 minutos por semana de actividad física aeróbica a in-

País	Confinamiento domiciliario	Comercio	Hostelería	Enseñanza presencial	Deporte exterior
Alemania	No	Cierre (17 Marzo a 20 Abril)	Cierre (17 Marzo a 9 Mayo)	Suspendida (16 Marzo a 20 Abril)	Sí
Austria	16 Marzo a 1-may.	Cierre (16 Marzo a 2 Mayo)	Cierre (16 Marzo a 29 Mayo)	Suspendida (16/18 Marzo a 3 Junio)	Sí
Bélgica	18 Marzo a 10-may.	Cierre (18 Marzo a 4 Mayo)	Cierre (14 Marzo a 31 Agosto)	Suspendida (14 Marzo a 8 de Junio)	Sí
España	14 Marzo a 25-may.	Cierre (14 Marzo a 25 Mayo)	Cierre (14 Marzo a 22 Junio)	Suspendida (13 Marzo a 8 Junio)	No
Francia	17 Marzo a 30-may.	Cierre (15 Marzo a 2 Junio)	Cierre (15 Marzo a 1 Septiembre)	Suspendida (16 Marzo a 22 Junio)	Sí
Holanda	Parcial 23 Marzo a 15-jun.	Cierre parcial (23 Marzo a 11 Mayo)	Cierre (23 Marzo a 1 Septiembre)	Suspendida (16 Marzo a 15 Junio)	Sí
Italia	9 Marzo a 18-may.	Cierre (11 Marzo a 18 Mayo)	Cierre (9 Marzo a 31 Julio)	Suspendida (4 Marzo a Septiembre)	No
Inglaterra	23 Marzo a 4-jul.	Cierre (23 Marzo a 15 Junio)	Cierre (20 Marzo a 13 Julio)	Suspendida (20 Marzo a 15 Junio)	Sí
Polonia	25 Marzo a 20-abr.	Cierre parcial (31 Marzo a 18 Mayo)	Cierre (13 Marzo a 30 Mayo)	Suspendida (12 Marzo a 25 Mayo)	No

Tabla 1. Resumen de las características de las restricciones debidas a la propagación del COVID-19 en ciudadanos de 9 países europeos. Las fechas corresponden al inicio y al final de la restricción (5).

tensidad moderada, o bien entre 75 y 150 minutos de actividad física aeróbica a intensidad vigorosa, o bien una combinación equivalente". Además, se recomienda un mínimo de 2 días por semana de ejercicio de fuerza para trabajar todos los grupos musculares (9).

Este periodo ha generado consecuencias a nivel psicológico, sobre todo en personas con sobrepeso y obesidad (10). Se ha observado un aumento de estrés, ansiedad, depresión o insomnio, así como una disminución de la concentración o rendimiento laboral. Un empeoramiento de la salud mental se asocia con menores niveles de actividad física y una mayor ingesta de alimentos (11). Los pacientes con trastornos de la conducta alimentaria (TCA) se han visto perjudicados en esta situación, y estudios demuestran un aumento de atracones así como de conductas compensatorias (12). Por todo lo visto anteriormente, el objetivo principal de este artículo es realizar una revisión sistemática que compile la evidencia científica respecto a los cambios en el estilo de vida, tanto en relación con la dieta como con la actividad física que se dieron durante el confinamiento por la pandemia de SARS-CoV-2 en sujetos mayores de 18 años de 9 países europeos.

2. MÉTODO

Para realizar esta revisión sistemática, se han seguido los criterios correspondientes a la declaración PRISMA. Se ha utilizado como herramienta de búsqueda la fuente de datos "Pubmed". Se ha realizado una búsqueda avanzada identificando artículos relacionados con los cambios en los hábitos dietéticos durante el confi-

namiento por COVID-19. La búsqueda se ha realizado con los siguientes términos: (((("dietary changes*") OR ("lifestyle changes*")) AND ("covid-19*") OR ("covid-19 lockdown*")) AND (adults*). Con esta primera búsqueda inicial se obtuvieron un total de 410 artículos. Para conseguir acotar y obtener resultados más específicos, se aplicaron los siguientes filtros:

1. Fecha de publicación: Desde el año 2020.
2. Idioma de artículo: Español o Inglés.
3. Disponibilidad del texto: Texto completo gratuito
4. Edad: Adultos

Aplicando dichos filtros se obtuvieron un total de 212 artículos para evaluar. Se decidió incluir en esta revisión sistemática únicamente estudios realizados en Europa, ya que los hábitos dietéticos son más homogéneos que en otros continentes. Se excluyeron aquellos estudios que no cumplieran con los objetivos de este artículo. No se han incluido revisiones sistemáticas ni meta-análisis. Se eliminaron 186 referencias tras la lectura del título y/o resumen. Se estudiaron los 26 artículos restantes para comprobar que cumplieran con los objetivos.

Se eliminaron un total de 19 artículos, bien porque no estaban relacionados con los objetivos del estudio o bien porque estudiaban únicamente el impacto del confinamiento en el ejercicio físico, por lo que se seleccionaron 7 artículos. Por otro lado, se incluyeron 5 artículos a partir de las referencias de artículos. Finalmente se realiza la revisión sistemática con un total de 12 estudios.

La figura 1 muestra el diagrama de flujo de acuerdo con los criterios de la declaración PRISMA, para la búsqueda de artículos en esta revisión sistemática.

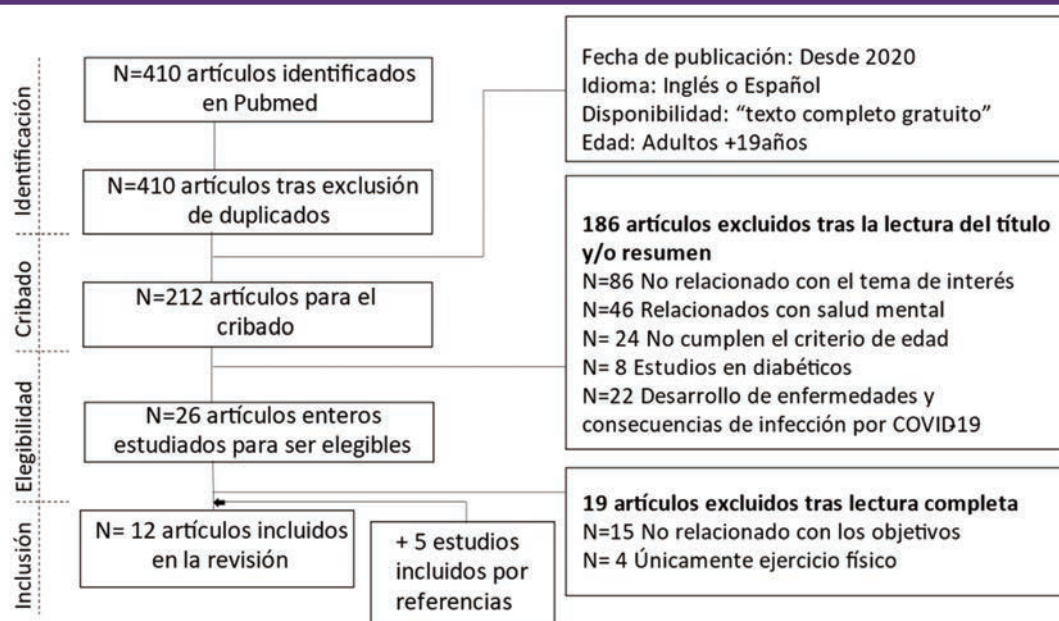


Figura 1. Diagrama de flujo de los estudios incluidos en la presente revisión sistemática



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios transversales	Muestra	Edad	País	Cuestionario empleado	Objetivo del estudio	Resultado sobre hábitos dietéticos
Górnicka et al. 2020 (13)	N=2381 (90% mujeres)	> 18	Polonia	Online PlifeCOVID-19 (dieta, estilo de vida, sociodemográfico)	Efecto del confinamiento por COVID-19 en el estilo de vida y hábitos dietéticos	28% de sujetos patrón dietético más sano y 19% patrón menos sano. 53% hábitos sostenidos. (+ ingesta, + dulces, + alcohol, + agua, - pescado, - carne procesada,)
Poelman et al. 2021 (14)	N=1030 (51% mujeres)	> 18 Media: 50	Holanda	Online (sociodemográfico, conducta alimentaria y de compra de alimentos)	Examinar los hábitos dietéticos durante el confinamiento	83% no modificó los hábitos dietéticos. Un 10% los mejoró (+ vegetales, - alcohol, - dulces) y un 7% los empeoró (+ bebidas azucaradas, + picoteo, - pescado).
Marty et al. 2021 (15)	N=1353 (79% mujeres)	> 18 Media: 39	Francia	Online (sociodemográfico, F-FCQ, CFCA)	Conocer los cambios de la calidad nutricional de la dieta	Disminución de la calidad de la dieta (+ ingesta, + carne procesada, + bebidas alcohólicas, + bebidas azucaradas).
Rodríguez-Pérez et al. 2020. (16)	N=7514 (71% mujeres)	> 18	España	Online (sociodemográfico, 14 ítem MEDAS, 21 ítems estilo de vida)	Influencia del confinamiento por COVID-19 en los hábitos dietéticos	Score + 0.8 MEDAS (+ frutas, + verduras, + legumbre, - ingesta, - carne roja, - picoteo, - pescado, - alcohol, - bebidas azucaradas)
Błaszczyc-Bebenek et al. (17)	N=312 (64% mujeres)	> 18 Media: 41	Polonia	(sociodemográfico, DHNBQ, antropometría)	Determinar el efecto del confinamiento en los hábitos dietéticos y en el estado nutricional.	Cambios significativos en la dieta. (+ tomas diarias, + picoteo, + dulces, + alcohol, - comida rápida)
Mertens et al. 2020. (18)	N=1129 (77% mujeres)	> 18 Media: 35	Bélgica	Online (Sociodemográfico, dieta, AF)	Conocer el cambio en la ingesta de alimentos y AF durante el confinamiento	Más propensos a cambios no saludable. (+ verduras, + fruta, + agua, + dulces, + picoteo, + alcohol y - comida rápida)
Cancello et al. 2020 (19)	N= 497 (84% mujeres)	> 18	Italia	Online (sociodemográfico, hábitos dietéticos, AF, sueño)	Evaluar los cambios en el estilo de vida durante el confinamiento por covid-19	34% de sujetos mejor calidad de dieta y 19% peor calidad. (+ ingesta, + picoteo, + frutas, + verduras, + agua, + alcohol)
Huber et al. 2021 (20)	N= 1964 (72% mujeres)	> 18 Media: 23	Alemania	Online (sociodemográfico, estilo de vida)	Conocer el cambio de ingesta de alimentos y sus determinantes	Alteraciones significativas en hábitos dietéticos. (+ ingesta, + pan, + dulces, - comida preparada)
Skotnicka et al. 2021 (21)	N= 1071 (56% mujeres)	> 18	Europa (Polonia, Austria, UK)	Online (50 ítems del FFQ6, actividad física, peso corporal)	Examinar los hábitos dietéticos así como en la AF	Hábitos dietéticos modificados. (+ tomas diarias, + ingesta, + picoteo, + dulces, + agua, + vegetales, + alcohol, + carne, + cereales, - pescados)
Romeo-Arroyo et al. 2020 (22)	N= 602 (50% mujeres)	> 18 Media: 43	España	Online (CFCA, hábitos culinarios, DEBQ)	Determinar los hábitos dietéticos durante el confinamiento	No se han visto cambios en la mayoría de los hábitos dietéticos. (+ dulces, + picoteo, - pescado)
Sidor et al. 2020. (23)	N= 1097 (95% mujeres)	> 18 Media: 28	Polonia	Online (demográfico, frecuencia de consumo, estilo de vida)	Identificar los hábitos dietéticos durante la cuarentena	Modificación desfavorable de los hábitos dietéticos, sobre todo en sujetos obesos. (+ ingesta, + picoteo, + alcohol, + dulces, + carne roja, - verdura, - fruta)
Cohorte	Muestra	Edad	País	Cuestionario	Objetivo	Resultado sobre hábitos dietéticos
Deschasaux-Tanguy et al. 2021. (24)	N=37.252 (52% mujeres)	> 18	Francia	Online (cambios dietéticos percibidos, IPAQ 3 R24H, antropometría)	Examinar los cambios en hábitos dietéticos, actividad física y peso	El 19.8% reflejó cambios favorables, el 37.4% no favorables, 43% mantuvo hábitos. (+ ingesta, + picoteo, + dulces, + agua, + alcohol, - pescado, - carne)

Tabla II. Resumen de las características de los estudios transversales y de cohorte incluidos en esta revisión sistemática. (AF= actividad física / IPAQ = cuestionario internacional de actividad física / R24H = Recuerdos de 24 horas / CFC(G)A= cuestionario de frecuencia de consumo (de grupos) de alimentos / FFQ6= food frequency questionnaire) / F-FCQ: french food choice questionnaire / DHNBQ: dietary habits and nutrición beliefs questionnaire.

Lifestyle changes during the SARS-CoV-2 pandemic confinement in

Europe: a systematic review



En esta revisión sistemática se ha recogido la evidencia sobre los cambios en el estilo de vida (dieta y actividad física) debidos al confinamiento en sujetos mayores de 18 años de 9 países de Europa. La tabla 2 recoge los principales hallazgos respecto las alteraciones en los hábitos dietéticos.

Once estudios son transversales (13-23) y uno es una cohorte con trece años de seguimiento (24). En cuanto al tamaño muestral, la cohorte incluía más de 37.000 sujetos (24), ocho de ellos presentaban una muestra de más de mil sujetos (entre 1000 y 10000) (13-16, 18, 20, 21, 23), y tres estudios presentaban una muestra menor, de 312 (17), 497 (19) y 602 (22) participantes. La mayoría de los sujetos eran mujeres, siendo el porcentaje muy elevado en algunos estudios (95% (23), 90% (13), 84% (19), 79% (15)). Los estudios se realizaron en países europeos, tres en Polonia, dos en Francia y otros dos en España. Los restantes trabajos incluyeron sujetos de Italia, Bélgica, Holanda, Alemania. Uno de los estudios (N = 1071) incluyó sujetos de Polonia, Austria e Inglaterra.

A continuación, se presentan los resultados encontrados en relación con el efecto del confinamiento sobre el estilo de vida. En relación con la dieta se evalúan los siguientes parámetros: ingesta energética total, picoteo, consumo de frutas, verduras, dulces y alcohol.

3. 1. Cambios en la ingesta energética total debidos al confinamiento en sujetos adultos de 9 países de Europa

La ingesta energética total durante el confinamiento fue mayor. Ocho de los estudios incluidos encontraron que la ingesta aumentó (13-15, 17, 19-21, 23, 24), mientras que dos mostraron una disminución (16, 24). Se han visto incrementos de desde un 9% (14) hasta un 44% (22). Poelman et al. (14), en Holanda, también encontró que los horarios de comidas se alteraron de forma irregular, disminuyendo el tiempo entre tomas.

Las mujeres fueron las que mayores ingestas de alimentos realizaron (14, 20). Huber et al. (20) también añadió que los sujetos de entre 18 y 25 años, así como los que tenían sobrepeso y obesidad fueron aquellos que más cantidad de alimentos ingirieron. Además, un incremento en el consumo de alcohol, en el hábito tabáquico o en el nivel de estrés junto con una reducción de la actividad física se asoció a una mayor ingesta. Górnicka et al. (13) no encontró asociación entre la ingesta y la edad o sexo, pero un mayor índice de masa corporal se asoció a un incremento de la ingesta. Se ha señalado que sujetos que vivían juntos tenían mayores probabilidades de aumentar la ingesta, mientras que aquellos que realizaban actividad física eran tres veces más propensos a una disminución (19).

En cuanto a las tomas diarias, Skotnicka et al. (21) encontró que el número de sujetos que realizó 5 comidas diarias du-

rante el confinamiento se alteró de un 29% a un 37% respectivamente. Błaszczuk-Bębenek et al. (17), de la misma forma, indicó que el porcentaje de población que realizó 5 tomas diarias se incrementó en un 11%. Además, este estudio destacó que la gran mayoría de sujetos mantuvieron el consumo de los mismos productos, pero aumentando el tamaño de ración.

En dos estudios franceses se verificó el aumento de ingesta expresado en calorías. Marty et al (15) señaló un aumento diario de 235 kilocalorías, mientras que la cohorte NutriNet-Santé (24) estableció este aumento en +467 kilocalorías en el 25% de los sujetos, pero también se observó una disminución en el 33% de los participantes de -510 kilocalorías. Únicamente un estudio realizado en España evidenció que más de la mitad de los encuestados (64% de 7.514) negó haber comido más durante el confinamiento (16).

3. 2. Cambios en el picoteo entre comidas debidos al confinamiento en sujetos adultos de 9 países de Europa

Nueve estudios encontraron un aumento del consumo de picoteo o snacks en proporciones variables. Este se ha visto independientemente de las restricciones impuestas en cada país. Se vieron incrementos en entre un 5% (17) y un 70% (24), pasando por 22% (14), 42% (19), 46% (18), 50% (13, 22) y 52% (23). Skotnicka et al. (21) encontró que el incremento de picoteo se dio en toda la muestra analizada. Mertens et al (18) indicó que este aumento fue debido al teletrabajo, ya que se estaba más predispuesto a picotear al tener acceso a la cocina durante gran parte del día o en su totalidad. Górnicka et al. (13) señaló un aumento de *snacks* en un 50% en sujetos con malos hábitos, mientras que también encontró una reducción de un 50% en aquellos sujetos que siguieron una dieta saludable. Frutas, dulces, galletas, tartas, barritas de chocolate o alimentos salados como patatas fritas fueron los alimentos que más se consumieron entre horas (17). Sidor et al. (23) asoció el incremento de picoteos a un mayor índice de masa corporal. Sujetos con sobrepeso (25-29.9 kg/m²) y obesidad (>30 kg/m²) fueron los que mayor consumo de *snacks* presentaron en Polonia.

Uno de los dos estudios realizados en España no encontró cambios significativos en la ingesta de este tipo de productos (16). Mientras que Romeo-Arroyo et al. (22), también en España, encontró que los participantes con cambios de humor significativos durante el confinamiento picotearon en mayor proporción (+50%). Esto fue debido principalmente a su bajo estado de ánimo, y trataron de revertir esta situación con un mayor consumo de alimentos ultra procesados, con elevadas cantidades de azúcares, grasas y sal. Por todo lo visto, se puede indicar que el picoteo fue considerablemente mayor durante el confinamiento.



3. 3. Cambios en el consumo de frutas y verduras debidos al confinamiento en sujetos adultos de 9 países de Europa

Ocho estudios mostraron un aumento significativo en la ingesta de frutas y verduras (13-16, 18, 19, 21, 23). La población disfrutó de la cocina y de la elaboración de nuevos platos con inclusión de vegetales (25). Casi el 25% de los españoles cocinó más de lo habitual durante el confinamiento, dedicando hasta 10 horas por semana (22). Por otro lado, 4 estudios muestran una disminución en su consumo (13, 15, 23, 24). Marty *et al.* (15), estudio francés de 1353 sujetos, demostró que aquellas personas que priorizaron su estado de ánimo tuvieron una disminución en la calidad nutricional de la dieta, limitando el consumo de frutas y verduras. Pero las que dieron mayor importancia al peso eligieron opciones saludables, aumentando su consumo.

Sidor *et al.* (23) en Polonia indicó que casi un tercio de los participantes no consumió fruta y verdura de forma diaria. Además, los sujetos con obesidad fueron los que consumieron con menor frecuencia este tipo de alimentos. Górnicka *et al.* (13) mostró resultados bidireccionales en cuanto al consumo de verduras, ya que un 19.4% disminuyó su consumo, un 18.5% aumentó, y un 62% no cambió (de 2381 participantes). Y respecto al consumo de fruta, un 20.1% disminuyó su consumo, un 15.2% aumentó, y un 64.7% no cambió.

El estudio de cohortes (24) con 37.252 sujetos también mostró dos patrones de consumo opuestos. Por un lado, el 37% de los sujetos realizó cambios no favorables con una disminución de productos frescos como frutas y verduras, viéndose también disminuido el aporte de fibra diario respecto al año anterior (21.5 gramos en Abril de 2019 frente a 21 g en Abril de 2020). Mientras que un 20% mostró cambios favorables relacionados con la nutrición, con un aumento de vegetales. Además, esta cohorte señaló un aumento significativo en el consumo de vegetales congelados, mientras que el de vegetales frescos se vio disminuido. Esto pudo deberse a que los participantes fueron con menor frecuencia al supermercado, por lo que se compraron grandes cantidades de alimentos congelados para una mayor duración y una menor exposición al virus. También señala que mediante recuerdos de 24 horas realizados a lo largo de los años, el consumo de verduras ha aumentado (230 gramos al día en 2017, 235 en 2018, 225 en 2019 y 240 en 2020), pero los resultados no son estadísticamente significativos. Se han encontrado resultados opuestos y no concluyentes respecto al consumo vegetales.

3. 4. Cambios del consumo de dulces debidos al confinamiento en sujetos adultos de 9 países de Europa

El confinamiento ha generado un incremento en el consumo de dulces. 10 estudios han demostrado esta tendencia (13,

17-24), mientras que tan solo uno muestra resultados contrarios (14). El estudio de Huber *et al.* (20) en Alemania demostró un claro incremento en el consumo de pan y dulces, en un 47% y un 64% respectivamente. El aumento en el consumo de dulces se observó tanto en aquellos participantes que indicaron un aumento de ingesta total, como en aquellos que la disminuyeron. Canello *et al.* (19) en Italia señaló un aumento de pan, pastas, harinas y dulces. La compra de estos alimentos fue necesaria para realizar repostería casera, la cual se vio incrementada durante el confinamiento. El estudio francés de Deschasaux-Tanguy *et al.* (24) de 2021 con 37.252 participantes señaló que casi un 40% de ellos realizó cambios no favorables en la alimentación, con una elevada ingesta de chocolates, tartas y galletas. Esta cohorte ha demostrado que esto se vio principalmente en sujetos que ya seguían una dieta con elevado consumo de productos ultra procesados en años anteriores. Se ha visto que aquellas personas que antepusieron su estado de ánimo en vez de su salud priorizaron el consumo de este tipo de alimentos (15). Además, Górnicka *et al.* (13) encontró una disminución del 29% en el consumo de pastelería y dulces comerciales, pero se vio un aumento del 40% en sus versiones caseras. Este incremento en el consumo de dulces causó un aumento significativo en la ingesta de hidratos de carbono, desplazando el consumo de otros grupos de alimentos. Un incremento de carbohidratos puede generar enfermedades cardiovasculares, obesidad y diabetes (26).

Sin embargo, también hubo estudios que presentaron una disminución en el consumo de dulces. Poelman *et al.* (14) en Holanda indicó una disminución en la ingesta de tartas (-15%) y chocolates (-13%), observando una tendencia en la que en países con confinamientos menos estrictos se mostró un mejor estilo de vida, si bien es cierto que el 83% de los sujetos mantuvo sus hábitos intactos. Dado que tan solo un estudio ha mostrado una reducción en el consumo de dulces, podemos concluir que la ingesta de estos se ha visto incrementada durante en confinamiento en los trabajos analizados.

3. 5. Cambios en el consumo de alcohol debidos al confinamiento en sujetos adultos de 9 países de Europa

Respecto al consumo de alcohol, se encontraron resultados dispares pero la tendencia estuvo encaminada a una mayor ingesta de este, evidenciado por 8 estudios (13, 15, 17-19, 21, 23, 24). Tan solo dos estudios encontraron una disminución de su consumo (14, 16). Se ha encontrado asociación entre el consumo de alcohol y personas en el hogar, ya que vivir solo o con niños causa una menor ingesta, a diferencia de convivir con personas de la misma edad (18). Los periodos de aislamiento generan estrés, siendo esto un factor de riesgo para un uso indebido de alcohol (27). Un consumo elevado de alcohol tiene efectos adversos en los individuos, inclu-



yendo una mayor susceptibilidad a coger la infección por el virus del SARS-CoV-2 (28). Deschasaux-Tanguy et al. (24) y Górnicka et al. (13) señalaron que el 15% y el 18% de los sujetos incrementó el consumo de alcohol. Otro trabajo indicó que los sujetos de entre 35 y 50 los fueron los que más bebidas alcohólicas consumieron, mientras que sujetos de entre 18 y 34 años y de entre 51 y 81 años redujeron su consumo (18).

Poelman et al. (14) encontró que un 13% de los sujetos ingirió menos cantidades de alcohol durante el confinamiento, a excepción de aquellos con sobrepeso y obesidad, a los que les resultó más complicado disminuirlo. La disminución del consumo de alcohol, especialmente en cerveza y en bebidas de alta graduación, en el 57% de los sujetos del estudio español Rodríguez-Pérez et al. (16) es un cambio favorable que ocasionó una mayor adherencia a la dieta mediterránea.

Las recomendaciones establecidas por algunos organismos internacionales como la OMS para una alimentación más saludable en pandemia parece que no han tenido un repercusión nivel poblacional a la vista de los resultados encontrados, ya que se aconsejaba limitar la ingesta de azúcar así como de bebidas alcohólicas e incrementar la de vegetales (29).

3. 6. Cambios en los niveles de actividad física debidos al confinamiento en sujetos adultos de 9 países de Europa

La actividad física fue evaluada en 6 estudios. La mayoría de los estudios -5 de ellos- mostraron una disminución significativa en sus niveles. Skotnicka et al. (21) mostró reducciones en los tres países objeto de estudio, al igual que otros trabajos donde se mostraron reducciones de un -35% (19) y de un -43% (13). Además, en otros dos de ellos la actividad física se vio disminuida a más de la mitad (-53% (24) y -60% (16)), por lo que el confinamiento limitó considerablemente la práctica de ejercicio físico según los estudios analizados. Existe evidencia acerca de los beneficios de la actividad física y la salud mental (30), y se debería de promocionar y animar más a la población a realizar actividad física en situaciones de aislamiento.

La mayor reducción de la actividad física proviene del estudio realizado en España, en el cual 4475 participantes de 7514 redujeron sus niveles (16). Cabe destacar que en este país la actividad física al aire libre no estaba permitida. Polonia e Italia, países en los que se observaron reducciones en los niveles de actividad

Variable	Aumento/disminución	Referencias	
Peso corporal	Aumento	(17, 19-21, 23, 24)	↑
	Disminución	(16, 17, 24)	
Ingesta total	Aumento	(13-15, 17, 19-21, 23, 24)	↑
	Disminución	(16, 24)	
Picoteo	Aumento	(13,14, 17-19, 21-24)	↕
	Disminución	-13	
Frutas y verduras	Aumento	(13-16, 18, 19, 21, 24)	↑
	Disminución	(13, 15, 23, 24)	
Dulces	Aumento	(13, 17-24)	↑
	Disminución	-14	
Alcohol	Aumento	(13, 15, 17-19, 21, 23, 24)	↑
	Disminución	(14, 16)	
Actividad física	Aumento	-18	↓
	Disminución	(13, 16, 19, 21, 24)	

Tabla 3. Resumen de los principales resultados encontrados sobre el efecto del confinamiento en cambios en la dieta y actividad física y peso corporal.



física también limitaron las salidas al exterior, por lo que podría decir que las restricciones impuestas en los países modifican el estilo de vida. Sin embargo, en el estudio francés con mayor número de participantes (37252), se encontró una reducción del 53%, a pesar de que en Francia sí que se podía realizar deporte al aire libre.

Deschasaux-Tanguy *et al.* (24) describió además que el sedentarismo incrementó en el 63% de los sujetos, con una media de siete horas diarias sentados. Górnicka *et al.* (13) y Martens *et al.* (18) también indicaron un aumento en el tiempo dedicado a pantallas en el 49% y 55% de sus participantes. En el estudio polaco un 36% de los participantes dedicó más de 8 horas diarias a las pantallas. Un 6% de los ellos lo asocian a el teletrabajo y estudio online, mientras que un 8% de los ellos indicaron que este incremento fue debido al aburrimiento (13). Otras referencias señalan que se utilizaron de forma masiva plataformas como *Netflix* o *TikTok* (31).

Skotnicka *et al.* (21) también concluyó que periodos de aislamiento generan una disminución de la actividad física y un incremento de sedentarismo. Este mismo estudio, en el cual se incluían participantes de tres países europeos con distintas medidas de confinamiento, encontró que la práctica semanal de ejercicio físico disminuyó en Polonia un 5%, en Austria un 7%, y en Reino Unido un 11%.

Un único estudio señala un aumento significativo en la actividad física (18). Se vio un incremento del 63% en los paseos diarios. Este estudio se realizó en Bélgica, y cabe destacar que en este país estaba permitido salir a la calle para realizar actividad física durante el confinamiento. Este incremento se ha visto en participantes jóvenes y de mediana edad, en estudiantes y trabajadores, así como en participantes que vivían solos o convivían con otras personas.

Por ello, podemos afirmar que según los estudios analizados se ha visto una reducción de la actividad física, sin embargo, no se puede concluir que esta sea mayor o menor en función de las restricciones de cada país, pues se han encontrado resultados dispares.

3. 7. Efecto de los cambios en el estilo de vida sobre el peso corporal de los sujetos durante el confinamiento

Los cambios en el estilo de vida repercuten sin duda en el peso corporal. Los estudios muestran que hubo tanto un aumento de peso (17, 19-21, 23, 24) como una disminución (16, 17, 24). Sin embargo, el porcentaje de sujetos que aumentó de peso fue significativamente mayor, y se vieron aumentos de desde 1 kg hasta 10 kg (17, 23, 24). Pero en el estudio realizado en España con 7514 participantes, casi la mitad de ellos, un 47%, refirió no haber ganado peso (16). Este estudio demostró que aquellos sujetos que tuvieron una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea durante el

confinamiento no aumentaron de peso.

El aumento de la ingesta y las tomas diarias, el consumo de dulces, y de alcohol han sido los causantes del incremento del peso corporal, según el estudio alemán (20). La disminución de la actividad física también contribuyó a ello (21). Błaszczuk-Bębenek *et al.* (17) en Polonia indicó haber encontrado un aumento de peso en el 46% de sujetos, de la circunferencia de la cintura (+ 1 cm) así como del IMC (24.98 kg/m² a 25.28 kg/m²) durante este periodo. Este estudio también demostró que un 22% de los sujetos disminuyó su peso, en una media de 1kg. Además, describió que los participantes con un IMC > 25kg/m² (sobrepeso/obesidad) fueron los que mayores aumentos de peso sufrieron. Estos cambios no se vieron tan alterados en sujetos con IMC < 25kg/m² (19, 23). Skotnicka *et al.* (21) indicó que las mujeres aumentaron más de peso que los hombres, en un 40% y 18% respectivamente, así como los participantes de 30 a 39 años. Otro trabajo señaló que el porcentaje de sujetos con sobrepeso y obesidad se vio incrementado (32.5%-33.6% y 12.1%-13.3%) (15).

Los cambios en el estilo de vida han llevado a un incremento del peso corporal, lo que se traduce en un aumento del sobrepeso y/u obesidad. Esto no favorece al desarrollo de la pandemia pues teniendo en consideración que un mayor índice de masa corporal se relaciona con un peor pronóstico de infecciones y mayor riesgo de contagio, en situaciones de confinamiento por una pandemia mundial se deberían de promover hábitos más saludables, así como estrategias para que la población lleve un mejor estilo de vida.

La tabla 3 muestra de manera resumida el efecto del confinamiento sobre los parámetros evaluados relacionados con el estilo de vida en sujetos sanos mayores de 18 años de los países estudiados.

4. FORTALEZAS Y LIMITACIONES

Esta revisión sistemática nos ha permitido recopilar la información disponible en la literatura sobre los cambios en los hábitos dietéticos y estilo de vida causados por el confinamiento en algunos países de Europa. Una dificultad importante son las diferencias culturales y gastronómicas entre continentes, por lo que decidimos centrar la búsqueda de estudios en Europa. Además, a diferencia de otras revisiones realizadas, una ventaja importante es que disponemos de las características específicas del confinamiento en los países objeto de estudio, lo que resulta muy valioso para poder analizar los resultados encontrados según el contexto.

No obstante, los estudios no son representativos de los países, además el número de estudios y sujetos por países es variable. Algunos como España o Francia disponen de un mayor número de



estudios y con más participantes (más de 7.000 y 37.000 respectivamente), a diferencia de otros como Bélgica (1129 sujetos). Además, otra de las limitaciones que puede tener esta revisión es que la ingesta dietética fue auto declarada, por lo que se pudo dar una sobreestimación de ingestas saludables o infraestimación de las no saludables (32). Otro dato para tener en cuenta es que la mayoría de los estudios fueron transversales, por lo que no se tiene seguimiento temporal

5. CONCLUSIÓN

El confinamiento por COVID-19 parece que ha modificado el estilo de vida en las poblaciones europeas estudiadas en esta revisión sistemática. Se han visto cambios desfavorables para la salud en los hábitos dietéticos, como incrementos de la ingesta energética, de dulces, picoteo y alcohol, acompañados de una reducción en los niveles de actividad física, lo que ha llevado a un aumento del peso corporal. Se necesitan estudios a largo plazo y con mayor tamaño muestral para valorar mejor el impacto de la pandemia COVID-19 y mejorar las recomendaciones de estilo de vida en el caso de futuras pandemias.

6. REFERENCIAS

1. OMS. COVID-19: Cronología de actuación de la OMS. Disponible online: <https://www.who.int/es/news/item/27-04-2020-who-timeline---covid-19> (consultado el 19 de Junio de 2022).
2. WHO/EUROPE. Two years of covid-19 pandemic. New report. Disponible online: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/health-emergencies/pages/news/news/2022/03/two-years-of-covid-19-pandemic-new-report-highlights-the-100-weeks-of-whoeuropes-efforts-to-protect-lives-and-livelihoods> (consultado el 15 de Junio).
3. Klang E, Kassim G, Soffer S, Freeman R, Levin MA, Reich DL. Severe Obesity as an Independent Risk Factor for COVID-19 Mortality in Hospitalized Patients Younger than 50. *Obesity (Silver Spring)*. 2020 Sep;28(9):1595-1599. doi: 10.1002/oby.22913. Epub 2020 Aug 2. PMID: 32445512; PMCID: PMC7283736.
4. Killerby ME et al. CDC COVID-19 Response Clinical Team. Characteristics Associated with Hospitalization Among Patients with COVID-19 - Metropolitan Atlanta, Georgia, March-April 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020 Jun 26;69(25):790-794. <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6925e1external icon>.
5. CIDOB. COVID-19: La respuesta de Europa contra la pandemia (2020). Disponible online: https://www.cidob.org/biografias_lideres_politicos/organismos/union_europea/covid_19_la_respuesta_de_europa_contra_la_pandemia_2020 (consultado el 12 de Junio de 2022).
6. OMS. Alimentación Sana. Disponible online: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet> (consultado el 14 de Junio de 2022).
7. Calder PC, Carr AC, Gombart AF, Eggersdorfer M. Optimal Nutritional Status for a Well-Functioning Immune System Is an Important Factor to Protect against Viral Infections. *Nutrients*. 2020 Apr 23;12(4):1181. doi: 10.3390/nu12041181. PMID: 32340216; PMCID: PMC7230749.
8. Iddir M, Brito A, Dingeo G, Fernandez Del Campo SS, Samouda H, La Frano MR, Bohn T. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients*. 2020 May 27;12(6):1562. doi: 10.3390/nu12061562. PMID: 32471251; PMCID: PMC7352291.
9. OMS. #SanosEnCasa — Actividad física. Disponible online: <https://www.who.int/es/news-room/campaigns/connecting-the-world-to-combat-coronavirus/healthyathome/healthyathome---physical-activity> (consultado el 20 de Junio de 2022).
10. Flanagan EW, Beyl RA, Fearnbach SN, Altazan AD, Martin CK, Redman LM. The Impact of COVID-19 Stay-At-Home Orders on Health Behaviors in Adults. *Obesity (Silver Spring)*. 2021 Feb;29(2):438-445. doi: 10.1002/oby.23066. Epub 2020 Dec 18. PMID: 33043562; PMCID: PMC7675243.
11. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, Woodland L, Wessely S, Greenberg N, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet*. 2020;395(10227):912-20. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30460-8. Epub 2020 Feb 26. PMID: 32112714; PMCID: PMC7158942.
12. Castellini G et al. The impact of COVID-19 epidemic on eating disorders: A longitudinal observation of pre versus post psychopathological features in a sample of patients with eating disorders and a group of healthy controls. *Int J Eat Disord*. 2020 Nov;53(11):1855-1862. doi: 10.1002/eat.23368. Epub 2020 Aug 28. PMID: 32856333; PMCID: PMC7461528.
13. Górnicka M, Drywień ME, Zielinska MA, Hamułka J. Dietary and Lifestyle Changes During COVID-19 and the Subsequent Lockdowns among Polish Adults: A Cross-Sectional Online Survey PLifeCOVID-19 Study. *Nutrients*. 2020 Aug 3;12(8):2324. doi: 10.3390/nu12082324. PMID: 32756458; PMCID: PMC7468840.
14. Poelman MP, Gillebaart M, Schlinkert C, Dijkstra SC, Derksen E, Mensink F et al. Eating behaviour and food purchases during the COVID-19 lockdown. *Appetite*. 2021 Feb 1;157:105002. doi: 10.1016/j.appet.2020.105002. Epub 2020 Oct 14. PMID: 33068668; PMCID: PMC7554484.
15. Marty L, de Lauzon-Guillain B, Labesse M, Nicklaus S. Food choice motives and the nutritional quality of diet during the COVID-19 lockdown in France. *Appetite*. 2021 Feb 1;157:105005. doi:



- 10.1016/j.appet.2020.105005. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068666; PMCID: PMC7558232
16. Rodríguez-Pérez, C.; Molina-Montes, E.; Verardo, V.; Artacho, R.; García-Villanova, B.; Guerra-Hernández, E.J.; Ruíz-López, M.D. Changes in Dietary Behaviours during the COVID-19 Outbreak Confinement in the Spanish COVIDiet Study. *Nutrients* 2020, 12, 1730. doi: 10.3390/nu12061730. PMID: 32531892; PMCID: PMC7353108.
17. Błaszczuk-Bębenek E, Jagielski P, Boleśawska I, Jagielska A, Nitsch-Osuch A, Kawalec P. Nutrition Behaviours in Polish Adults before and during COVID-19 Lockdown. *Nutrients*. 2020 Oct 10;12(10):3084. doi: 10.3390/nu12103084. PMID: 33050404; PMCID: PMC7601522.
18. Mertens E, Deriemaeker P, Van Beneden K. Adjustments in Food Choices and Physical Activity during Lockdown by Flemish Adults. *Nutrients*. 2021 Oct 26;13(11):3794. doi: 10.3390/nu13113794. PMID: 34836052; PMCID: PMC8619818.
19. Canello R, Soranna D, Zambra G, Zambon A, Invitti C. Determinants of the Lifestyle Changes during COVID-19 Pandemic in the Residents of Northern Italy. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Aug 28;17(17):6287. doi: 10.3390/ijerph17176287. PMID: 32872336; PMCID: PMC7504331.
20. Huber, B.C., Steffen, J., Schlichtiger, J. et al. Altered nutrition behavior during COVID-19 pandemic lockdown in young adults. *Eur J Nutr* 60, 2593–2602 (2021). Huber, B.C., Steffen, J., Schlichtiger, J. et al. Altered nutrition behavior during COVID-19 pandemic lockdown in young adults. *Eur J Nutr* 60, 2593–2602 (2021).
21. Skotnicka, M.; Karwowska, K.; Kłobukowski, F.; Wasilewska, E.; Małgorzewicz, S. Dietary Habits before and during the COVID-19 Epidemic in Selected European Countries. *Nutrients* 2021, 13, 1690. doi: 10.3390/nu13051690. PMID: 34065655; PMCID: PMC8156782.
22. Romeo-Arroyo E, Mora M, Vázquez-Araújo L. Consumer behavior in confinement times: Food choice and cooking attitudes in Spain. *Int J Gastron Food Sci*. 2020 Oct;21:100226. doi: 10.1016/j.ijgfs.2020.100226. Epub 2020 Jun 4. PMID: 32528560; PMCID: PMC7272181.
23. Sidor A, Rzymiski P. Dietary Choices and Habits during COVID-19 Lockdown: Experience from Poland. *Nutrients*. 2020 Jun 3;12(6):1657. doi: 10.3390/nu12061657. PMID: 32503173; PMCID: PMC7352682.
24. Deschasaux-Tanguy M, Druésne-Pecollo N, Esseddik Y, de Edelenyi FS, Allès B, Andreeva VA, Baudry J et al. Diet and physical activity during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) lockdown (March-May 2020): results from the French NutriNet-Santé cohort study. *Am J Clin Nutr*. 2021 Apr 6;113(4):924-938. doi: 10.1093/ajcn/nqaa336. PMID: 33675635; PMCID: PMC7989637.
25. Grunert KG, De Bauw M, Dean M, Lähteenmäki L, Maison D, Penanen K et al. No lockdown in the kitchen: How the COVID-19 pandemic has affected food-related behaviours. *Food Res Int*. 2021 Dec;150(Pt A):110752.
26. Khan TA, Sievenpiper JL. Controversies about sugars: results from systematic reviews and meta-analyses on obesity, cardiometabolic disease and diabetes. *Eur J Nutr*. 2016 Nov;55(Suppl 2):25-43. PMID: 27900447; PMCID: PMC5174149.
27. Weiss IC, Pryce CR, Jongen-Rêlo AL, Nanz-Bahr NI, Feldon J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behav Brain Res*. 2004 Jul 9;152(2):279-95. doi: 10.1016/j.bbr.2003.10.015. PMID: 15196796.
28. Szabo G et al. Alcohol's Effect on Host Defense. *Alcohol Res*. 2015;37(2):159-70. PMID: 26695755; PMCID: PMC4590613.
29. OMS. #Sanosencasa — Alimentación saludable. Disponible online: <https://www.who.int/campaigns/connecting-the-world-to-combat-coronavirus/healthyathome/healthyathome---healthy-diet> (consultado el 21 de Junio)
30. Taylor CB, Sallis JF, Needle R. The relation of physical activity and exercise to mental health. *Public Health Rep*. 1985;100(2):195-202. PMID: 3920718; PMCID: PMC1424736.
31. Parents Together Foundation. Screen time during COVID-19 crisis. Disponible en: <https://parents-together.org/survey-shows-parents-alarmed-as-kids-screen-time-skyrockets-during-covid-19-crisis/> (consultado el 23 de Junio)
32. Castro-Quezada I, Ruano-Rodríguez C, Ribas-Barba L, Serra-Majem L. Misreporting in nutritional surveys: methodological implications. *Nutr Hosp*. 2015 Feb 26;31 Suppl 3:119-27. doi: 10.3305/nh.2015.31.sup3.8760. PMID: 25719780.

Si desea citar nuestro artículo:

Cambios en el estilo de vida durante el confinamiento por la pandemia de SARS-CoV-2 en Europa: una revisión sistemática

Amelia Martí del Moral y Natalia Vázquez Bolea

An Real Acad Farm [Internet].

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 3 (2022) · pp. 293-302

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.03.03>

ENSAYOS CLÍNICOS CON MEDICAMENTOS ESTÉRILES. ANÁLISIS DEL REGISTRO ESPAÑOL DE ENSAYOS CLÍNICOS

CLINICAL TRIALS WITH STERILE PREPARATIONS. ANALYSIS OF SPAIN CLINICAL TRIAL REGISTRY

Alberto García-Rojo de Cózar

Facultad de Farmacia, Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Farmacéutica. Plaza Ramón y Cajal s/n. Ciudad Universitaria. 28040, Madrid. España

corresponding author: garciarojodecozar@gmail.com

REVISIÓN

RESUMEN

Objetivo: Analizar el régimen jurídico para la preparación de productos estériles en el contexto de los ensayos clínicos.

Método: Se ha completado una revisión bibliográfica de diferentes normas, guías e informes de organismos, así como de realizarse un análisis del Registro Español de Ensayos Clínicos (REec) para conocer la tendencia del tipo de ensayos clínicos que se realizan en España.

Resultados: En la Unión Europea no existe una regulación específica en este asunto siendo responsabilidad de cada estado miembro legislar sobre ello. En el caso de España, existe una guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria.

En cuanto al análisis del Registro Español de ensayos clínicos, se han obtenido datos que indican que aproximadamente el 50% de los estudios podrían requerir que estos fármacos en investigación sean preparados en condiciones de esterilidad, así como dentro de este grupo de estudios, el 79% son estudios de carácter internacional.

Conclusiones: España tiene un marco normativo robusto en materia de preparación de medicamentos estériles tanto dentro de la práctica habitual como para fármacos en investigación clínica. Todos los profesionales involucrados en investigación clínica deben conocer esta regulación para seguir garantizando la posición de excelencia que tiene España en investigación clínica a nivel internacional.

ABSTRACT

Objective: To review the legal regime for sterile products preparation in the context of clinical trials.

Method: A literature review of different rules, guidelines and reports from different organisms has been completed. Furthermore, an analysis of Spanish Clinical Trials Registry (REec) was performed in order to know the trend of what is the type of clinical trials that are being conducted in Spain.

Results: at Europe Union there is not a specific regulation about this matter, being a member state responsibility to have a local law. In Spain, there is a guideline regarding Good Practices of preparation for drugs on Hospital Pharmacy Services. Spain Clinical Trials Registry analysis indicates that approximately 50% of studies could required that those study drugs to be pre-pared on sterile conditions, and on this group, 79% are international studies.

Conclusions: Spain has solid regulations on sterile preparation drugs for routine practice and for clinical research drugs. All professionals involved in clinical research should be aware of these regulations in order to maintain Spain's position of excellence in clinical research at the international level.

Palabras Clave:

ensayos clínicos
productos estériles
servicios de farmacia

Keywords:

clinical trials
sterile preparation
pharmacy services



1. INTRODUCCIÓN

La investigación clínica aporta conocimiento médico a través del estudio con medicamentos en personas siendo el nexo entre la investigación básica y la asistencia a los pacientes. Los datos de este tipo de investigaciones permiten obtener la autorización de comercialización para nuevos fármacos de las diferentes agencias reguladoras (1,2,3). Este tipo de investigación es clave en el desarrollo de nuevos fármacos, ya que sin ella la aprobación de nuevas terapias y el desarrollo de las guías farmacoterapéuticas quedan limitadas al conocimiento ya disponible.

La investigación clínica ha ayudado a posicionar a España como una de las mayores potencias para el desarrollo de ensayos clínicos gracias al trabajo de colaboración entre la administración, sistema y profesionales sanitarios, pacientes y compañías farmacéuticas (4). Durante el año 2020, se aprobaron hasta un total de 690 ensayos clínicos nuevos de acuerdo al Registro Español de ensayos clínicos (en adelante, REec). Los últimos resultados en la 30ª publicación Medicamentos Innovadores (3) los estudios en fases tempranas (Fase I y II) son un 46,8% de los ensayos realizados y los ensayos fase III un 46,5% del total.

Los servicios de farmacia, además del almacenamiento y dispensación del fármaco de estudio son los encargados en un elevado número de ensayos clínicos de la preparación del fármaco antes de su dispensación y administración al paciente. Es importante resaltar la importancia que tienen las instalaciones y personal encargado de preparar el fármaco, en especial, si es una administración parenteral. Unas buenas instalaciones, personal cualificado y procedimientos normalizados de trabajo para el manejo de las mezclas de administración parenteral reducen el riesgo de que un paciente pueda sufrir eventos adversos por posibles pérdidas de estabilidad fisicoquímica o contaminación microbiológica durante la preparación, sin tener esta relación con la naturaleza del fármaco (6). Desde la preparación hasta la administración de la mezcla de administración parenteral, el farmacéutico y/o el personal bajo su supervisión deben garantizar, no sólo las condiciones idóneas, sino también que se mantengan las condiciones ideales de estabilidad, compatibilidad y esterilidad del producto terminado. Las mezclas deben ser terapéutica y farmacéuticamente apropiadas para el paciente, preparadas con un mínimo de manipulaciones posibles y que presenten condiciones óptimas de eficacia y seguridad, garantizando así que se alcance el objetivo terapéutico deseado (7). En el marco de un ensayo clínico, todo acontecimiento adverso será monitorizado, incluidos aquellos que ocurran durante la administración o después de la administración debido a que pudiesen estar relacionados con el fármaco de estudio.

Todos los motivos expuestos ayudan a entender el motivo por el cual los promotores de ensayos clínicos evalúan todos los procesos, personal implicado e instalaciones de cada uno de los centros en cuanto a las mezclas de administración parenteral. Los promotores basan sus selecciones en las instalaciones, personal y procedimientos en centros de investigación en los que se persigue reducir al máximo cualquier posible evento que pueda poner en tela de juicio la seguridad del fármaco de estudio por un motivo que no esté relacionado directamente con la idio-sincrasia de la molécula, tal y como se reseña.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha completado una revisión bibliográfica de las normas, guías e informes de diferentes organismos y artículos de investigación publicados relacionados con la preparación de productos estériles en los servicios de farmacia en España con la finalidad de conocer cuál es el proceso a seguir durante la preparación de mezclas de administración parenteral en los centros sanitarios en la actualidad.

Por otro lado, se ha completado un análisis del Registro Español de ensayos clínicos para analizar el número de estudios registrados en él, y de estos, cuáles de ellos contienen fármacos que pudieran ser susceptibles de ser preparados en ambientes estériles para obtener datos acerca del número de ensayos clínicos que contienen fármacos que requieren ser preparados en condiciones de esterilidad.

3. RESULTADOS

Los ensayos clínicos que se llevan a cabo en España promovidos por la industria farmacéutica, además de realizar ensayos clínicos multicéntricos (participación de varios centros de investigación en el mismo país para un mismo ensayo clínico), el 94,1% son de carácter internacional (3). Con este dato, podemos comprender que los laboratorios farmacéuticos necesitan que sus equipos de operaciones clínicas, en los países en los que desarrollan su actividad, estén compuestos por personal suficientemente cualificado, además de en asuntos de carácter científico y médico, también en la normativa local de cada país permitiéndose así tener las máximas garantías en la obtención de datos de calidad en el desarrollo de su fármaco en investigación.

Las mezclas de administración parenteral deben prepararse en ambientes controlados para garantizar su esterilidad y condiciones de seguridad apropiadas a la hora de ser administradas al paciente. A pesar de que este concepto es de carácter general para cualquier mezcla de administración parenteral a nivel mundial,



no estará recogido del mismo modo en las normativas, farmacopeas o guías de buenas prácticas en cuanto a cómo han de ser las instalaciones, formación del personal o procedimientos a seguir con este tipo de preparaciones en los diferentes países o regiones.

En enero de 2011, por la resolución CM/ResAP10, se recomendó la necesidad de elaborar directrices prácticas sobre la preparación de medicamentos con la finalidad de evitar diferencias de calidad y seguridad entre las preparaciones de medicamentos en centros sanitarios y aquéllos que fuesen elaborados a escala industrial. En el caso de España, la normativa que se debe conocer relativa a este asunto y las preparaciones estériles de este tipo es el Real Decreto Ley 16/2002, de 20 de abril, de medidas urgentes para garantizar la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud y mejorar la calidad y seguridad de sus prestaciones (8). Esta norma regula en su artículo 7, la "manipulación y adecuación de preparaciones de medicamentos" permitiendo así acreditar a los servicios de farmacia hospitalaria a operaciones de fraccionamiento, personalización de dosis y otras operaciones de reacondicionamiento y transformación de medicamentos garantizando que se cumplen las guías técnicas de buena práctica. Estas guías de buena práctica de manipulación, fraccionamiento y dosificación personalizada son mencionadas en su artículo 7.3 y atribuye la elaboración de dicha guía técnica a la Dirección General de Cartera Básica del Servicio del Sistema Nacional de Salud y Farmacia con la colaboración de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y expertos de reconocido prestigio. Desde la publicación de este RD ley en el BOE el 24 de abril de 2012 hasta junio de 2014 no se publicó la "guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicio de farmacia hospitalaria" (9).

De acuerdo al Real decreto legislativo por el que se aprobó el texto refundido de la ley de garantías y uso racional del medicamento (11) se continúa atribuyendo lo ya previsto en el Real Decreto Ley 16/2002, de 20 de abril, con relación a las funciones de modificación, acondicionamiento, ajuste de dosis etc. al farmacéutico especialista en farmacia hospitalaria a través del servicio de farmacia en la publicación de 2006 y sin cambio o actualización en el texto refundido de dicha ley en 2015 (artículo 84.2 y 85.1).

Es importante, dado el objeto de estudio de este trabajo, mencionar que las guías de buena práctica, contemplan tanto la práctica diaria como la investigación clínica. Es bastante habitual que en los centros sanitarios en los que se lleve a cabo investigación clínica, dentro del servicio de farmacia suele existir una unidad de ensayos clínicos de farmacia. La guía de buena práctica de preparación de medicamentos evalúa los procesos a seguir, la vía de administración, el perfil de seguridad, las cantidades a preparar y la vulnerabilidad de la preparación y distribución. Si el fármaco a preparar es de ensayo clínico, es un aspecto a tener en cuenta en el

perfil de seguridad, ya que por encontrarse en el contexto de un ensayo clínico es considerado un fármaco de riesgo medio ya que durante el desarrollo clínico debe hacerse un continuo seguimiento a la seguridad del fármaco, buscando en todo momento reducir al mínimo cualquier variable que pueda comprometer la seguridad del fármaco de estudio.

La normativa actual de ensayos clínicos en España (RD1090/2015 (Art.39 ñ) (2), recoge que no siempre es necesaria la participación del servicio de farmacia como servicio colaborador en el ensayo clínico. En aquellos casos en los que el envío de la medicación de investigación se realice directamente al investigador principal sin pasar por un servicio de farmacia, será éste quien asumirá la responsabilidad de correcta preparación, administración, custodia y dispensación. Ante este artículo novedoso en el RD1090/2015, podría interpretarse como una contradicción entre la normativa actual de ensayos clínicos y la guía de buena práctica de preparación en los servicios de farmacia. No obstante, no cabe lugar para dicha contradicción, ya que por normativa local puede seleccionarse un centro en el que el servicio de farmacia pueda no participar como servicio colaborador en un ensayo clínico o participar centros de investigación sin servicio de farmacia teniendo en cuenta que el promotor, debe cerciorarse que es seguro seleccionar un centro con estas características en base a los requerimientos de su fármaco en estudio mediante la firma de la idoneidad del investigador de acuerdo al RD1090/2015 por la persona física designada por el promotor del ensayo clínico. A su vez, además de la conformidad por parte del promotor, la dirección del centro y el Comité de Ética e Investigación con Medicamentos (CEIm) debe emitir sus correspondientes conformidades mediante la idoneidad de las instalaciones y dictamen aprobación respectivamente. Por tanto, la ausencia del servicio de farmacia en un ensayo clínico, es posible, pero debe ser evaluada responsablemente con el conocimiento de toda la normativa vigente revisada en este trabajo por todos los intervinientes antes de comenzar cualquier actividad de reclutamiento e inclusión de paciente en el centro. Algunos estudios (7) recogen que la preparación de medicamentos inyectables estériles realizados por profesionales de salud, es uno de los procedimientos más sujeto a errores tanto por su complejidad como por su elevado riesgo de contaminación microbiológica. Se ha visto que la frecuencia de errores en la preparación de mezclas es ocho veces mayor en la planta que en una unidad de mezclas parenterales por diferentes causas como procedimientos inadecuados de chequeo, roturas de la técnica aséptica y errores de cálculo y preparación. Por este motivo, a nivel internacional, se recomienda que la preparación de los medicamentos parenterales se realice de forma centralizada en los servicios de farmacia y se entreguen listos para su administración a enfermería.

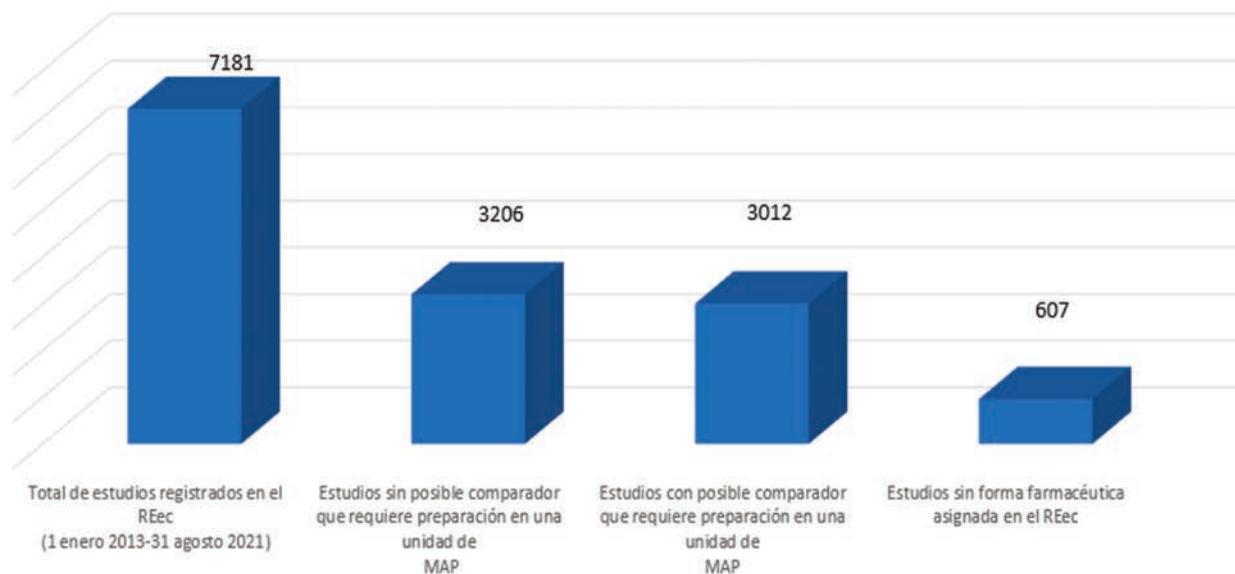


Figura 1. Distribución de los estudios incluidos en el Registro Español de ensayos clínicos (REec) desde 1 de enero de 2013 a 31 de agosto de 2021.

Apoyado en la revisión bibliográfica previa, se ha realizado un análisis de los ensayos clínicos que se encuentran publicados en el Registro Español de ensayos clínicos (REec). En este registro público se recoge la información de todos los ensayos clínicos autorizados en España desde el 1 de enero de 2013.

La revisión del Registro Español de ensayos clínicos (REec) para este trabajo ha consistido en generar un informe de todos los estudios clínicos publicados en la plataforma desde el 1 de enero de 2013 a 31 de agosto de 2021. El total de estudios clínicos incluidos es de 7181 estudios. Basados en este informe general se ha completado un análisis de los datos obteniéndose como primera conclusión que un total de 3012 estudios (figura 1) contiene, al menos una entre las diferentes formas farmacéuticas que se pueden utilizar

en ese estudio, sería necesario pre-pararla en condiciones de esterilidad en una unidad de mezclas de administración parenteral.

Los datos obtenidos de la revisión del Registro Español de ensayos clínicos (REec) indican que cerca del 50% de los estudios de acuerdo a la figura 1 (3012 estudios) contienen fármacos susceptibles de ser preparados en unidades de mezclas de administración parenteral. Además, de todos estos estudios, 2395 estudios son de carácter internacional (figura 2) reafirmando así la idea mencionada anteriormente acerca de que los laboratorios farmacéuticos necesitan que sus equipos de operaciones clínicas estén compuestos por personal suficientemente cualificado, además de en asuntos de carácter científico y médico, también en la normativa local de cada país.

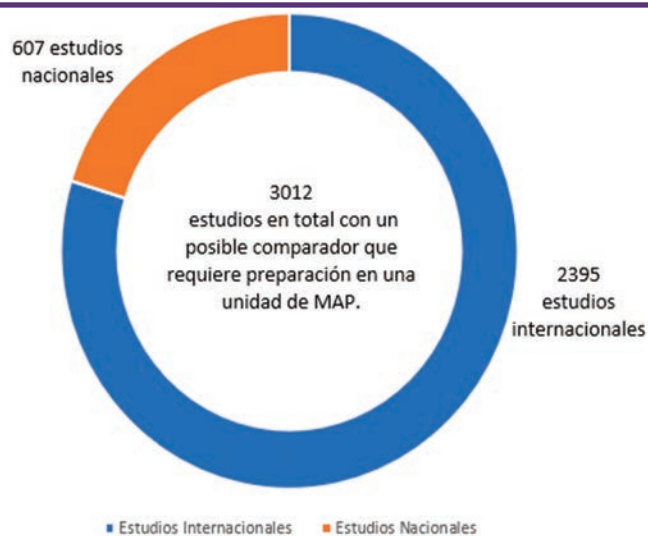


Figura 2. Distribución de los estudios internacionales frente a nacionales que contienen un posible comparador que requiere preparación en una unidad de mezclas de administración parenteral.

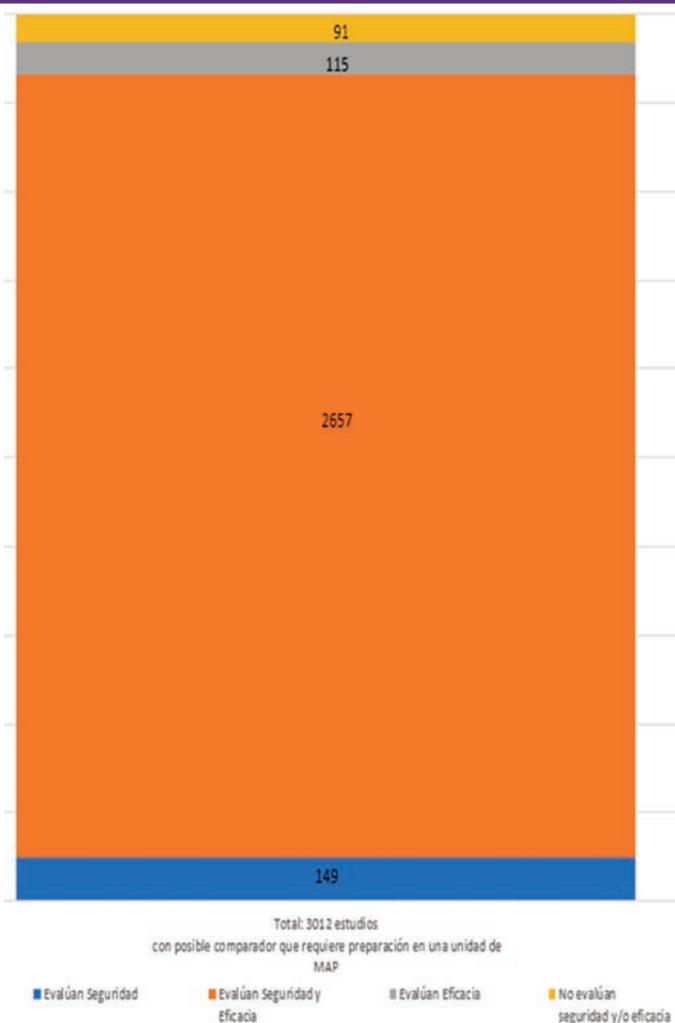


Figura 3. Distribución de estudios que tienen entre sus objetivos de estudio eficacia y/o seguridad con un posible comparador que requiere preparación en una unidad de mezclas de administración parenteral. .

Por último, de los ya 3012 estudios mencionados, 2806 estudios incluyen entre sus objetivos la seguridad del fármaco de estudio (Figura 3). Este objetivo dentro de los estudios, y en especial los de fases tempranas, es decisivo ya que, si un fármaco en investigación muestra durante estas fases un balance beneficio riesgo desproporcionado, su desarrollo clínico puede llegar a ser interrumpido por falta de seguridad de acuerdo a las normas de buena práctica clínica (5).

4. DISCUSIÓN

La investigación clínica en España es un sector de elevado interés socio-económico por el desarrollo de nuevas terapias beneficiosas para los pacientes como del gran impacto económico que posee este sector en nuestro país. A pesar de estos intereses económicos, es primordial velar por la seguridad de los pacientes que participen en los ensayos clínicos, así como de obtener datos de calidad que avalen ante las agencias reguladoras la solicitud de autorización de comercialización de los fármacos estudiados.

Tanto por toda la información aportada de la revisión bibliográfica como de la revisión del Registro Español de ensayos clínicos (REec), se pretende remarcar la importancia del especialista en operaciones clínicas encargado de la selección y puesta en marcha de un ensayo clínico. El especialista en operaciones clínicas debe conocer y saber aplicar este entramado legislativo que le permitirá justificar que todo aquel servicio de farmacia hospitalaria que esté acreditado por la comunidad autónoma en la que se encuentre el centro, de acuerdo al artículo 7 del Real Decreto ley 16/2012 de 20 de abril, y por tanto tendrá la suficiente consistencia en sus procesos y medios para poder realizar todas aquellas actividades de fraccionamiento, personalización de dosis y otras operaciones de reacondicionamiento y transformación de medicamentos tan seguros como si se hubiese realizado a escala industrial en el contexto de un ensayo clínico. Si se optase por seleccionar centros en los que no existe un servicio de farmacia y el fármaco pudiera ser preparado en una localización diferente a una unidad de mezclas parenterales, se debe evaluar los potenciales riesgos durante la preparación basado en la matriz de decisión de la guía de buenas prácticas de preparación



la preparación de medicamentos inyectables estériles realizados por profesionales de salud es uno de los procedimientos más sujeto a errores tanto por su complejidad, como por su elevado riesgo de contaminación microbiológica y mayor frecuencia de errores durante la preparación en planta, así como otros errores durante la manipulación. Se recomienda que la preparación de los medicamentos parenterales se realice de forma centralizada en los servicios de farmacia y se entreguen listos para su administración a enfermería.

Con relación a los resultados obtenidos de la revisión del Registro Español de ensayos clínicos (REec) aproximadamente el 50% de los estudios que tenían correctamente identificados los comparadores que se utilizaban en los estudios clínicos podrían requerir que estos fármacos fuesen preparados en condiciones de esterilidad por contener una forma farmacéutica de administración parenteral, dado que su presentación final no era apta para administración directa al paciente. De este grupo de estudios que podría contener comparadores que requerirían ser preparados en unidades de mezclas de administración parenteral, el 79% son de carácter internacional reafirmando de nuevo la importancia de que los promotores de ensayos clínicos con presencia en diferentes localizaciones geográficas requieren especialistas en investigación clínica que conozcan las necesidades normativas de cada región para su puesta en marcha. Finalmente, de todos los estudios que podrían contener un comparador que necesitase ser preparados en condiciones de esterilidad, el 93% de los estudios contenía entre los objetivos de estudio la evaluación de la seguridad del fármaco de estudio, y como se menciona, todo promotor buscará la máxima protección de todos los pacientes participantes en su estudio, y siempre buscará evitar cualquier posible causa que pudiera poner en tela de juicio la seguridad de su fármaco de estudio, ya que de acuerdo a las normas de buena práctica clínica si el balance beneficio riesgo no es proporcionado el desarrollo clínico podría interrumpirse para dicha molécula.

5. CONCLUSIONES

España es en la actualidad es un país de elevado interés para los promotores de ensayos clínicos de carácter internacional. Desde el punto de vista de este trabajo, España tiene un marco normativo robusto en materia de preparación de medicamentos estériles tanto dentro de la práctica habitual como para fármacos en investigación clínica. Este marco normativo nos permite posicionarnos como una nación que vela por la seguridad de los pacientes, siendo esto imprescindible para el desarrollo de ensayos clínicos que permitan obtener unos buenos datos de seguridad y eficacia que serán presentados ante las agencias reguladores para la obtención de la autorización de comercialización.

Por último, es conveniente reseñar que todos los profesionales involucrados en investigación clínica, ya sea bien en los centros sanitarios o como parte de los promotores de ensayos clínicos, deben conocer las normativas revisadas en este trabajo para seguir garantizando la posición de excelencia que tiene España en investigación clínica a nivel internacional.

Agradecimientos

Al Prof. Dr. Carlos del Castillo Rodríguez como director de la tesis doctoral del autor y a sus supervisoras, Dra. Ana Esther García Cadenas y Dra. María Isabel Vázquez Calleja por el soporte y asesoramiento en este trabajo.

6. REFERENCIAS

1. Instituto Nacional de la Salud Infantil y Desarrollo Humano Eunice Kennedy Shriver [página Web]. Oficina de Comunicaciones [16/10/2020; 09/11/2021]. Disponible en: <https://espanol.nichd.nih.gov/salud/investigacion-clinica>
2. Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos. Boletín Oficial del Estado, nº 307, 24 de diciembre de 2015.
3. BD Metrics. Datos y Análisis de la 30ª Publicación. Proyecto BEST (Investigación Clínica en Medicamentos). Farmaindustria y Plataforma Tecnología Española Medicamentos Innovadores. 15 de noviembre de 2021.
4. Farmaindustria [página Web]. Comunicación de Farmaindustria [19/05/2021; 09/11/2021]. Disponible en: <https://www.farmaindustria.es/web/otra-noticia/dia-internacional-del-ensayo-clinico-pacientes-espanoles-ya-se-estan-tratando-con-los-farmacos-del-futuro/>
5. Normas de Buena Práctica Clínica E6(R2). 1 de diciembre de 2016. EMA/CHMP/ICH/135/1995. Comité de medicamentos de uso humano.
6. Centers for Disease Control and Prevention. [página Web]. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Healthcare Quality Promotion (DHQP) [2/05/2012; 09/11/2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/injectionsafety/index.html>
7. Gaspar Carreño, M, Torrico Martín, F, Novajarque Sala, L, Batista Cruz, M, Ribeiro Gonçalves, P, Porta Oltra, B, Sánchez Santos, J. C. Medicamentos de Administración Parenteral: Recomendaciones de preparación, administración y estabilidad. Farmacia Hospitalaria [en línea]. 2014, 38(6), 461-467. ISSN: 1130-6343.



8. Real Decreto-ley 16/2012, de 20 de abril, de medidas urgentes para garantizar la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud y mejorar la calidad y seguridad de sus prestaciones. Boletín Oficial del Estado, nº 98, 24 de abril de 2012.
9. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Guía de Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos en Servicios de Farmacia Hospitalaria. Junio 2014.
10. Consejo de Europa. Resolución CM ResAp 1 sobre las exigencias relativas a la garantía de calidad y de inocuidad de los medicamentos preparados en las farmacias para las necesidades especiales de los pacientes. 1103ª reunión de los ministros delegados del Comité de ministros. 19 de enero de 2011.
11. Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. Boletín Oficial del Estado, nº 177, 25 de julio de 2015.

Si desea citar nuestro artículo:

Ensayos clínicos con medicamentos estériles. Análisis del Registro Español de ensayos clínicos

Alberto García-Rojo de Cózar

An Real Acad Farm [Internet].

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 3 (2022) · pp. 303-309

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.03.04>

ACTUALIZACIÓN EN TABAQUISMO, ABORDAJE DESDE LA FARMACIA COMUNITARIA Y TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS DE ELECCIÓN

UPDATE ON TOBACCOISM, APPROACH FROM THE COMMUNITY PHARMACY AND PHARMACOLOGICAL TREATMENTS OF CHOICE

Miguel C. Aguiló Juanola

Servicio de Tabaquismo. Farmacia Aguiló Juanola. Padre B. Pou 26. 07003-Palma

corresponding author: mcaguilo75@gmail.com

INVESTIGACIÓN

RESUMEN

El tabaquismo es una enfermedad adictiva crónica con carácter pandémico y, por tanto, requiere desarrollar estrategias de prevención y de tratamiento.

Las relaciones del tabaquismo con la obesidad y la genética se vienen estudiando los últimos años, así como su abordaje en adolescentes, objetivo principal de la industria tabacalera.

Se conocen bien las implicaciones del humo de segunda mano (fumadores pasivos), de tercera mano (tóxicos en el entorno del fumador) y de cuarta mano (contaminación ambiental por el tabaco), así como que no hay nivel seguro de fumar, como demuestran numerosos estudios.

El farmacéutico comunitario, por su formación de base y accesibilidad, es un profesional sanitario idóneo para actuar en la prevención del tabaquismo y en su tratamiento, desarrollando un servicio profesional de tabaquismo en su farmacia, para lo que se requiere formación específica y una estructura física adecuada de la farmacia.

El tratamiento del tabaquismo debe ser, fundamentalmente, una combinación del tratamiento farmacológico con el cognitivo-conductual.

Los fármacos de primera elección para su tratamiento son la Terapia Sustitutiva con Nicotina (TSN) combinada (parches junto con forma oral) y la vareniclina.

La cinética de la nicotina en la TSN y su efecto agonista sobre los receptores alfa 4 beta 2, y el efecto agonista-antagonista de vareniclina sobre los mismos, explican su mecanismo de acción y efectividad.

Citisina, alcaloide del que deriva vareniclina, y con similar mecanismo de acción, es un fármaco recientemente comercializado en España, aunque se utiliza en países del Este desde hace muchos años. Ha demostrado su efectividad y seguridad, y con la experiencia de uso en nuestro ámbito se espera su inclusión en primera línea del tratamiento farmacológico del tabaquismo.

ABSTRACT

Smoking is a chronic addictive disease with a pandemic character and, therefore, requires the development of prevention and treatment strategies.

The relationship of smoking with obesity and genetics has been studied in recent years, as well as its approach in adolescents, the main objective of the tobacco industry.

The implications of second-hand smoke (passive smoking), third-hand smoke (toxics in the smoker's environment) and fourth-hand smoke (environmental pollution from tobacco) are well known, as is the fact that there is no safe level of smoking, as numerous studies show.

The community pharmacist, due to his basic training and accessibility, is an ideal health professional to act in the prevention of smoking and its treatment, developing a professional smoking service in his pharmacy, for which specific training and a adequate physical structure of the pharmacy are required.

The treatment of tobacco addiction must be, fundamentally, a combination of pharmacological treatment with cognitive-behavioral treatment.

The drugs of first choice for its treatment are Nicotine Replacement Therapy (NRT) combined (patches together with oral form) and varenicline.

The kinetics of nicotine in NRT and its agonist effect on alpha 4 beta 2 receptors and the agonist-antagonist effect of varenicline on them, explain its mechanism of action and effectiveness.

Cytisine, an alkaloid from which varenicline is derived, and with a similar mechanism of action, is a drug recently marketed in Spain, although it has been used in eastern countries for many years. It has demonstrated its effectiveness and safety, and with the experience of its use in our setting, it is expected to be included in the first line of pharmacological treatment of smoking.

Palabras Clave:

tabaquismo
actualización
tratamiento
farmacia comunitaria
adolescentes
obesidad
genética

Keywords:

smoking
update
treatment
community pharmacy
adolescents
obesity
genetic



1. INTRODUCCIÓN

El tabaquismo es considerado por la OMS como una enfermedad adictiva crónica con carácter pandémico (1) y, por tanto, susceptible de prevención y tratamiento, siendo la primera causa de muerte evitable en los países desarrollados (2). Aparece en la clasificación internacional de enfermedades, en el apartado F-17 (1).

El tabaquismo requiere de un abordaje multifactorial: científico, político y social y, desde luego, pluriprofesional.

En el estado español, la evolución de la prevalencia de consumo diario de tabaco en la población de 15-64 años, según el último informe EDADES del Ministerio de Sanidad, muestra unos datos relativamente esperanzadores, ya que, en relación a 2017, cuando se observó un ascenso en el consumo, se presenta una estabilización en varones jóvenes, y una disminución en los demás grupos de edad, en ambos sexos (3). Sin duda la concienciación de la población, el trabajo de los profesionales y las medidas legales, han ido ofreciendo sus frutos.

Es de justicia citar el inmenso trabajo que realizan entidades como la Sociedad Española de Especialistas en Tabaquismo (SEDET), organización sin ánimo de lucro, lugar de encuentro de la mayoría de profesionales españoles dedicados a la lucha contra el tabaquismo, así como los grupos de trabajo de las sociedades científicas de las profesiones sanitarias y organizaciones sociales de todo tipo, nacionales e internacionales, como *nofumadores.org*, *Truth Initiative*, o la *European Network for Smoking Prevention* (ENSP), por citar algunas de ellas.

El Comité Nacional para la Prevención del Tabaquismo (CNPT), en el que están representadas la mayoría de las sociedades científicas de las profesiones sanitarias, así como profesionales y otras organizaciones implicadas, actualizó su plan de actuación a la luz de la estrategia que la OMS puso en marcha en el año 2008 para facilitar la implementación del Convenio Marco para la Prevención del Tabaquismo, y que recopila las acciones en seis líneas de actuación, con el acrónimo *MPOWER*:

- Monitor: vigilar el consumo de tabaco.
- Protect: proteger a la población del humo del tabaco.
- Offer: ofrecer ayuda para dejar de fumar.
- Warn: advertir de los peligros del tabaco.
- Enforce: hacer cumplir las prohibiciones sobre publicidad, promoción y patrocinio.
- Raise: aumentar los impuestos del tabaco (4).

El borrador ministerial del plan integral de prevención y control del tabaquismo 2021-2025, que pretende complementar la actual ley 42/2010, introduce algunas de las modificaciones demandadas por sociedades científicas, organizaciones ciudadanas, y pro-

fesionales, como las de prohibir fumar en terrazas y en coches particulares, incrementar el precio del tabaco y los impuestos a los cigarrillos electrónicos, productos de tabaco calentado y cachimbas, o el empaquetado neutro, y pone como meta obtener el objetivo de la OMS de reducción relativa de un 30% del consumo de tabaco para 2025, en relación con los datos de 2010.

Eran medidas demandadas desde hace tiempo por las sociedades científicas, y últimamente se postula la de prohibir la venta de tabaco a los nacidos desde un año concreto. En diciembre de 2021, Nueva Zelanda lo implantó para los nacidos después de 2007. En este año 2022, Dinamarca valora la iniciativa de prohibirla a los nacidos desde 2010. Aunque genere cierta controversia, puede ser otra medida efectiva para el gran objetivo final de un mundo sin tabaco.

2. OBESIDAD Y TABAQUISMO

La OMS reconoce la obesidad también como una pandemia. Se puede considerar que tiene características similares al tabaquismo, siendo una enfermedad crónica y de componente también adictivo: la adicción a una mayor ingesta calórica. Pero existen más conexiones entre ambas patologías:

-Es bien conocido el riesgo de aumentar de peso temporalmente al dejar de fumar, por perder el efecto anorexígeno del tabaco, por lo que a menudo es conveniente intervenir también en el control del peso.

En un estudio sobre casi 500.000 adultos, los exfumadores tuvieron mayores posibilidades de ser obesos que los fumadores actuales y quienes nunca han fumado, manteniendo ese mayor riesgo frente a los primeros pasados 30 años, y se constató que el riesgo de obesidad era, en general, mayor, entre los grandes fumadores (5).

-Menos conocido es el efecto inverso, la obesidad como predisponente al tabaquismo. De un estudio genético sobre el índice de masa corporal, el porcentaje de grasa corporal y la medida de la cintura, en un biobanco de 450.000 personas, resulta la obesidad vinculada a un mayor riesgo de ser fumador y a un mayor número de cigarrillos consumidos al día, tanto en hombres como en mujeres.

Por otra parte, dicho estudio confirma también que quienes fuman con mayor intensidad tienden a tener sobrepeso (6).

3. TABAQUISMO Y GENÉTICA

Se ha descrito el daño que el tabaquismo puede producir en la dotación genética del fumador, por metilación del genoma, que se mantiene hasta 30 años después de dejar de fumar (7).



Por otra parte, se ha estudiado la diferente predisposición genética de determinados individuos para fumar y para desarrollar o no EPOC o cáncer de pulmón (8).

Un reciente metaanálisis con más de 600.000 individuos identifica 40 nuevos loci genéticos asociados al comportamiento de fumar. Como indican los autores, fumar es un importante factor de riesgo heredable y modificable para muchas enfermedades, y estos nuevos loci facilitarán la comprensión de la etiología genética del tabaquismo, pudiendo conducir a la identificación de posibles objetivos farmacológicos para su prevención o abandono (9).

En los adolescentes, el uso crónico de nicotina induce cambios epigenéticos que aumentan el riesgo para desarrollar adicción a otras sustancias. Al mismo tiempo, parece que la genética también influye en que algunos adolescentes tengan un riesgo más alto que otros para desarrollar la dependencia, con diferencias individuales notables (10).

Puede haber razones biológicas para una mayor vulnerabilidad de los adolescentes frente a la adicción al tabaco, y mayor susceptibilidad a los efectos de refuerzo de la nicotina, extremos que se han comprobado con modelos animales, pudiendo sugerir la existencia de genes específicos que puedan aumentar el riesgo de adicción en personas que comienzan a fumar durante la adolescencia, como se ha comentado anteriormente (11).

Además, un muy reciente estudio sobre la asociación de condiciones de salud tratables durante la adolescencia, con el envejecimiento acelerado a mediana edad, concluye que, tras la obesidad, fumar diariamente desde edad temprana es el factor que más contribuye a este envejecimiento, por diversos factores como el estrés oxidativo, estado inflamatorio, afectación genética, e incluso cambios en el comportamiento social (12).

4. TABACO Y ADOLESCENTES

Los adolescentes constituyen el objetivo principal de la industria tabacalera en los últimos años, con acciones directas, indirectas, y fomentando la utilización de las nuevas formas de fumar, muy atractivas para este público, y acompañadas de una impresionante campaña mediática, a todos los niveles.

La edad de inicio al tabaquismo en nuestro país ronda los 14 años, y se ha demostrado que por cada año de precocidad en el inicio del consumo de tabaco el riesgo de mortalidad por cualquier causa se incrementa un 4%.

El riesgo es mucho mayor si se inicia antes de los 12 años, cuando la sensibilidad del sistema cardiovascular a los tóxicos del tabaco es mucho mayor (13).

Factores como el entorno del adolescente y la cohesión familiar también han sido valorados, concluyendo algo tan aparen-

temente sencillo como que la mayor frecuencia de su participación en las comidas familiares implicaba menor consumo de drogas, incluido el tabaco, y mayor rendimiento académico y autoestima (14).

La intervención en adolescentes es especialmente compleja, ya que en este grupo de edad no se tiene percepción de riesgo y reciben múltiples impactos de publicidad subliminal e incluso directa a través de los medios que más utilizan, por lo que hay que hacer especial hincapié en desmontar falsos mitos, la propaganda de los nuevos productos, e incidir sobre aspectos frente a los que son especialmente sensibles, como la libertad, la solidaridad y conciencia ecológica, el atractivo personal y la madurez (15).

5. HUMO DE SEGUNDA, TERCERA Y CUARTA MANO

El humo ambiental del tabaco, conocido como humo de segunda mano, es la combinación de la exhalación de humo por el fumador tras inhalar tabaco y la corriente lateral, producida por el cigarrillo en combustión, y es el responsable del tabaquismo pasivo, del que se conocen bien los efectos negativos en la población (16).

El humo de tercera mano (*Third-Hand Smoke* o THS) se refiere a las sustancias tóxicas suspendidas en el humo del tabaco y que se adhieren, posteriormente, a varias superficies, pudiendo permanecer en estas hasta 6 meses tras dejar de fumar, y pudiendo reaccionar con oxidantes ambientales, aumentando su toxicidad al producirse nitrosaminas (17). Se ha comprobado, en modelos animales, la disminución de la ganancia de peso en ratones neonatos durante tres semanas de exposición al THS, y alteraciones producidas en el recuento de células sanguíneas, algunas relacionados con la respuesta inmunitaria, inflamatoria y reacciones alérgicas, y también en individuos adultos, que fueron reversibles semanas después de eliminar la exposición (18).

El de cuarta mano se refiere a la contaminación producida por las colillas desechadas por los fumadores. De 6 trillones de cigarrillos consumidos en el mundo durante un año, se considera que 4 trillones y medio de colillas van a parar al medio natural, pudiendo tardar más de 10 años en descomponerse, siendo el primer contaminante ambiental, muy por encima de los plásticos (19).

6. NO HAY NIVEL SEGURO DE FUMAR

El número de fumadores que fuman pocos cigarrillos al día o de forma intermitente va incrementando cada año, y en muchos casos se definen ellos mismos como no fumadores, con una baja percepción de riesgo (20). Sin embargo, numerosos estudios confirman que no hay nivel seguro:

-Fumar de 1 a 4 cigarrillos por día se asocia con un riesgo significativamente mayor, frente a no fumadores, de morir



por cardiopatía isquémica y otros eventos cardiovasculares, y el riesgo de muerte por cáncer de pulmón se triplica en hombres y quintuplica en las mujeres (21).

-El riesgo de muerte temprana es un 64% mayor y 9 veces mayor el riesgo de cáncer de pulmón, entre quien había fumado un solo cigarrillo en su vida, frente a los no fumadores, y el riesgo es menor cuanto más temprana es la edad en que se abandona el tabaco (22).

-Fumar un solo cigarrillo al día ya comporta la mitad del riesgo de enfermedad o accidente cardiovascular que fumar veinte (23).

-Un fumador de menos de cinco cigarrillos al día puede perder la misma función pulmonar, en un año, que un fumador de más de treinta al día, durante 9 meses (24).

7. SERVICIO DE TABAQUISMO EN FARMACIA COMUNITARIA

7.1. Idoneidad

El farmacéutico comunitario es un profesional sanitario idóneo para desarrollar un servicio profesional de tabaquismo. Principalmente, por su formación de base y por su accesibilidad.

La formación químico-biológica y sanitaria, con asignaturas como Toxicología, Farmacología, Fisiopatología, Salud Pública o Bioquímica, proporcionan al estudiante de Farmacia una formación de base que le será muy útil para desarrollar conocimientos en tabaquismo.

La demostrada accesibilidad del farmacéutico comunitario favorece, por otra parte, la interacción con los pacientes tanto para aplicar políticas de prevención como para captar a los fumadores y desarrollar un servicio de tabaquismo eficaz.

Según un estudio realizado por la SEFAC (Sociedad Española de Farmacia Clínica, Familiar y Comunitaria) en más de 1600 pacientes en toda España durante la semana sin humo de 2019, una de cada cuatro personas que quiere dejar de fumar recurre al farmacéutico comunitario en su primer intento. El 40% en su segundo, y el 46% en su tercer intento (25).

7.2. Formación especializada en tabaquismo

No existe, en este momento, una especialidad en tabaquismo en la formación de ninguno de los profesionales sanitarios que trabajan en este ámbito, esencialmente médicos, farmacéuticos, enfermeros o psicólogos.

La formación debe llevarse a cabo mediante cursos especializados, másters en tabaquismo o programas de capacitación de las sociedades científicas.

El PIUFETT (Programa Interuniversitario de Formación en Tabaquismo) ofrece un máster en tabaquismo de gran prestigio,

dirigido por el Dr. Javier Ayesta, desde hace más de 20 años, en el que se han formado la mayoría de especialistas en tabaquismo de nuestro país. La formación es on-line, con posibilidad de rotaciones prácticas, y proporciona 60 créditos ECTS.

La SEFAC ofrece el programa de capacitación *on-line* CESAR, renovado recientemente, de 9 meses de duración, avalado por las sociedades médicas SEMERGEN, semFYC, SEMG y SEPAR, y que consta de tres fases: teórica, práctica y clínica, proporcionando una formación integral en tabaquismo a los farmacéuticos comunitarios, estando dotado con 9,7 créditos de formación continuada.

Los Colegios profesionales proporcionan, también, cursos de formación en tabaquismo y protocolos para llevar a cabo este servicio de una forma unificada y según la evidencia científica actual.

7.3. Colaboración con la administración

Se han llevado a cabo, en diferentes CCAA, iniciativas de colaboración de los farmacéuticos comunitarios con la Administración en el marco del ofrecimiento de opciones para dejar de fumar.

En Baleares, cuando un ciudadano busca ayuda para dejar de fumar, se encuentra, en la página "*Tabaquismo de las Illes Balears*", de la DGSPP del GOIB, la oferta de dos alternativas, los centros de salud, y las "farmacias asociadas al programa". En este momento aparecen 32 farmacias, y son las que disponen de un farmacéutico con un máster en tabaquismo, capacitado por la SEFAC, o adherido al protocolo del COFIB (26).

7.4. Estructura física de la farmacia

Para desarrollar este servicio es imprescindible disponer de una estructura física adecuada. La zona de atención personalizada (ZAP) (27), exigida por la legislación de la práctica totalidad de las CCAA, permite un espacio con cierta confidencialidad para atender las consultas de los pacientes, y en ella se podrá realizar el primer contacto con el paciente fumador, explicando el servicio, o realizar una intervención breve. Para la intervención avanzada se requerirá un espacio con la máxima confidencialidad, como puede ser un despacho interior, biblioteca, o zona habilitada a tal efecto.

7.5. Sistemática

Al abordar un paciente fumador en farmacia comunitaria, se presentan diferentes opciones según si el paciente desea o no dejar de fumar en este momento, o lo ha dejado hace poco, y si la farmacia dispone o no de un servicio de tabaquismo (28) (Fig. 1).

La intervención breve debería realizarla cualquier profesional sanitario.

En cuanto a la intervención avanzada, se pueden destacar algunos aspectos básicos: La entrevista inicial es fundamental, y el farmacéutico deberá manejar la empatía como herramienta básica.

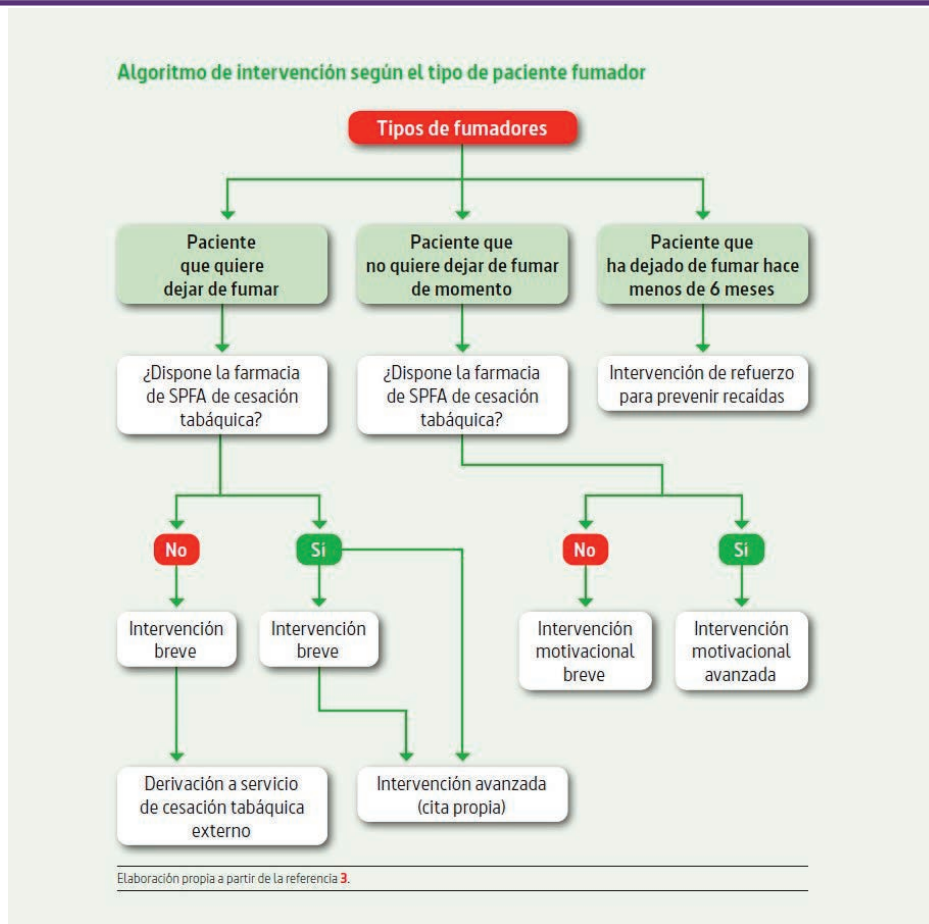


Figura 1. Algoritmo de abordaje del fumador en farmacia comunitaria (28)

Cuanto más datos se recojan del paciente, su entorno, su historial como fumador y su nivel de dependencia física, psicológica, social, conductual y gestual, mejor se confeccionará su patrón como fumador, y se podrá seleccionar el tratamiento más adecuado.

Si se trata de un fármaco de prescripción médica, se realizará una carta de derivación a su médico, con el que se contactará para continuar con el proceso de seguimiento del paciente.

En esta misma entrevista inicial se deberá llevar a cabo la parte cognitivo-conductual del tratamiento, y se pactará con el paciente el día D (cuando dejará de fumar definitivamente) y finalmente, se concertará visita para el primer seguimiento, ofreciendo mientras tanto contacto telefónico o vía whats app o por correo electrónico.

Lo importante es que el paciente se sienta acompañado durante todo el proceso.

7.6. Interacciones tabaco-fármacos

Hay dos tipos de interacciones tabaco-fármacos: las farmacocinéticas, debido al potente efecto inductor enzimático de varios componentes del humo del tabaco sobre algunos isoenzimas del citocromo P450, y las farmacodinámicas, principalmente debidas a la nicotina.

Pueden tener significación clínica notable en algunos casos, dependiendo del propio fármaco, su posología, la genética del individuo o incluso sus circunstancias personales. Las más significativas corresponden a fármacos utilizados en patologías psiquiátricas, pero pueden producirse con fármacos muy diversos.

Los terapeutas en tabaquismo deben considerar esta circunstancia para valorar, en cada caso, la necesidad de ponerse en contacto con el médico prescriptor, cuando se sospeche la necesidad de un ajuste de dosis en el momento que el paciente deja de fumar, cuando recae tras un periodo de abstinencia, o al producirse un ingreso hospitalario (29).

8. TRATAMIENTO DEL TABAQUISMO

El tratamiento del tabaquismo debe ser, idealmente, una combinación del tratamiento psicológico (el ya mencionado como cognitivo-conductual) con el tratamiento farmacológico (30).

Los tratamientos farmacológicos de elección, según la evidencia científica actual, son la TSN (Terapia Sustitutiva con Nicotina) combinada (parches + forma oral) y la Vareniclina. Se consideran de 2ª línea Bupropion y la TSN como monofármacos, es decir, o parches o formas orales.



En el metaanálisis de Fiore de 2008 (31), aparecen Vareniclina 2mg/día y la TSN combinada como los tratamientos con mayor tasa de abstinencia estimada.

El algoritmo actualizado de Hugues en 2013 ya consideraba como tratamientos de primera línea la Vareniclina y la TSN combinada, y como de 2ª línea Bupropion y la TSN como monofármaco (32).

Una revisión Cochrane de 2019, a partir de 63 estudios con más de 41.000 participantes concluye que la TSN combinada es tan efectiva como Vareniclina y entre un 15% y un 36% más efectiva que las formas únicas de TSN (33).

En la última edición del Tratado de Tabaquismo de Jiménez y Fagerström, de 2021, aparece un nuevo algoritmo para el tratamiento farmacológico del tabaquismo, en el que las dos opciones a considerar son la Vareniclina y la TSN combinada (34) (Fig. 2).

Se describen, a continuación, las dos opciones de elección, para continuar con la Citisina, como el nuevo principio activo a considerar.

8.1. TSN

La Terapia Sustitutiva con Nicotina, conocida como TSN, comprende un grupo de medicamentos no sujetos a prescripción médica, consideración que presentan por disponer de un perfil de seguridad acreditado, incluso en cardiopatía estable (35).

Son fármacos no financiados, de momento, por el SNS, con la excepción de la Comunidad Foral de Navarra y las Islas Canarias (28).

La revisión Cochrane de 2018, de TSN ante placebo o no tratamiento, que incluye 136 ensayos clínicos con 64.640 participantes, con una calidad de evidencia alta, concluye que todas las formas autorizadas de TSN pueden ayudar a las personas que intentan dejar de fumar aumentando sus posibilidades de éxito en un 50-60%, independientemente del entorno, y que es poco probable que investigaciones posteriores modifiquen dicha conclusión (36).

Para su abordaje práctico, incluyendo los aspectos más novedosos y actualizados, se ha elaborado, desde SEFAC, una monografía específica (28).

Por otra parte, al no precisar de receta médica, se facilita mucho su recomendación por parte de los farmacéuticos comunitarios.

El amplio abanico de opciones, con formas de liberación lenta en forma de parches transdérmicos de 16 y 24h, de diferentes concentraciones, y las formas orales de absorción rápida, comprimidos y chicles de diferentes concentraciones también, y el spray bucal y, sobre todo, la ideal utilización de la combinación de ambas formas, como ya se ha comentado, junto con la seguridad y efectividad ampliamente contrastadas, certificada por multitud de estudios, junto con la utilización en millones de pacientes desde hace más de 50 años, acreditan la TSN como una herramienta extraordinariamente útil en el tratamiento farmacológico del tabaquismo. En el momento de dispensar o recomendar un medicamento de la TSN, es muy conveniente instruir al paciente, de forma oral o, mejor, escrita, sobre su correcta utilización, para obtener el mejor resultado y minimizar posibles efectos secundarios.

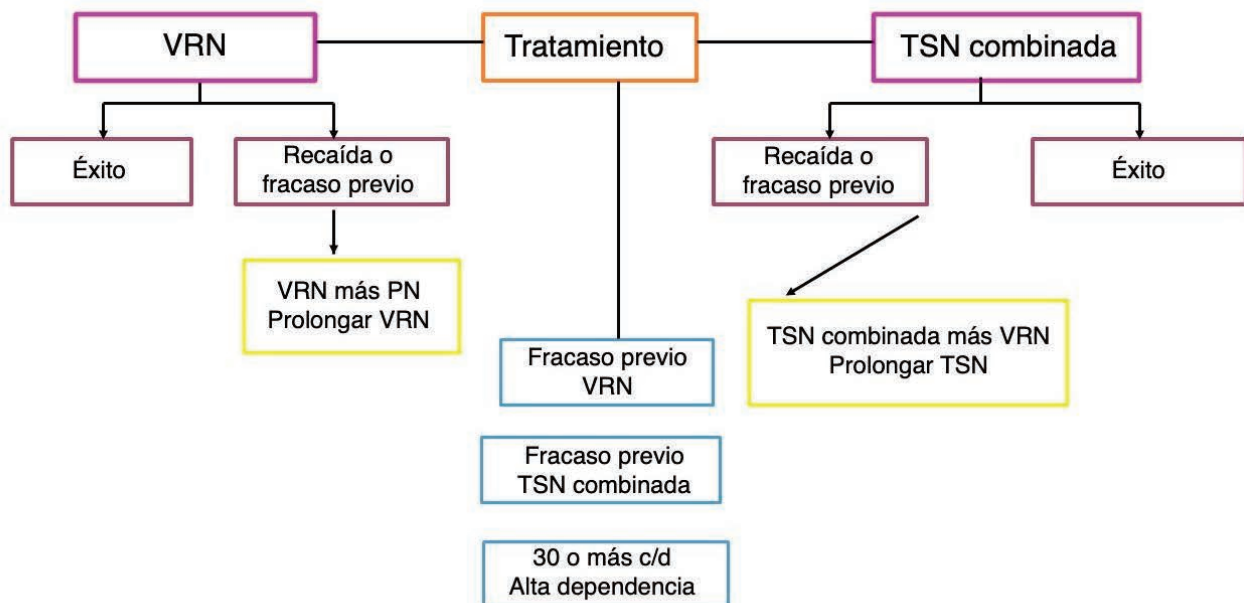


Figura 2. Algoritmo tratamiento farmacológico del tabaquismo (34)



8.1.1. Mecanismo de acción

La primera duda que se presenta al paciente, y muchas veces al propio terapeuta no avezado, es cómo va a poder ser útil la nicotina para abandonar la dependencia, precisamente, a la propia nicotina.

Las drogas inhaladas o inyectadas producen una rápida adicción, que es, en general, proporcional a la velocidad de entrada en el organismo. Cuando se da una calada a un cigarrillo, en sólo 7-10" la nicotina produce unos picos de nicotemia superiores a 30-35 ng/ml, alcanza el SNC y estimula los receptores neuronales del sistema dopaminérgico mesolímbico.

Por tanto, no basta con suministrar nicotina por una vía diferente, combatiendo las dependencias social, conductual y gestual, sino también con menor velocidad de absorción, lo que se consigue con las diferentes formas de TSN, suministrando nicotina en cantidad suficiente para obtener unos niveles medios de nicotemia entre los 7-10 ng/ml, cantidad mínima necesaria para producir una disminución de los síntomas del síndrome de abstinencia en el fumador que está en cesación, pero en cantidad insuficiente como para facilitar el desarrollo de dependencia, ya que los receptores no se van sustituyendo por otros nuevos, sino que se van extinguiendo (37,38, 39) (Fig. 3).

Este proceso se consigue mediante pautas decrecientes, en un mínimo de 3 meses, ajustándolas a las características del fumador.

La mayor efectividad de la TSN combinada se explica por la adaptación al patrón de fumador del paciente y, por tanto, se garantiza la adhesión al tratamiento y el éxito final.

El fumador inhala tabaco y la nicotina accede al organismo en elevados picos, como se ha comentado. Con la TSN combinada se suministran parches de nicotina, que la liberarán de forma gradual, y se añade una forma oral, la que mejor se adapte a las características del paciente, en los momentos en que fumaba con mayor pulsión, con lo que se creará un patrón de absorción parecido al que tenía cuando fumaba, pero sin llegar a estimular la producción de nuevos receptores y, por tanto, el mantenimiento de la dependencia.

El control del síndrome de abstinencia tranquilizará al paciente, y le permitirá llevar a cabo las medidas distractoras, de cambio de rutinas, y las recomendaciones adaptadas que se le habrán sugerido en la parte del tratamiento cognitivo-conductual.

Los parches de 16h serán de elección en fumadores diurnos, eligiendo los de 24h para personas que se levantan por la noche a fumar, que tienen turnos de trabajo cambiantes, incluyendo el nocturno, y en el caso de pacientes fumadores hospitalizados. En cuanto a las formas orales, habrá que considerar las preferencias del paciente, problemas de masticación, la forma en que fumaba,

posible contraindicación del uso de espráis, etc, y en los seguimientos se podrá proceder a cambiar de forma, si se valora como necesario (35).

8.1.2. TSN en embarazo y lactancia materna

En cuanto a la utilización durante el embarazo, siendo necesarios más estudios y con mayor nivel de evidencia, se considera la TSN segura y de elección si no es suficiente el tratamiento cognitivo conductual, y evidentemente mucho mejor que fumar (33,40), confirmándolo una muy reciente revisión Cochrane al respecto (41).

En cuanto a la lactancia, se considera de riesgo muy bajo y, en todo caso, se recomiendan los comprimidos, tras amamantar, y evitando las dos horas previas a las tomas (42).

8.1.3. TSN en adolescentes y en grandes fumadores

Se ha comprobado la seguridad y efectividad de la TSN combinada en adolescentes junto con la intervención cognitivo-conductual (43), y también en el caso de fumadores ligeros, de menos de 10 cigarrillos/día, como suele ocurrir precisamente en esta franja de edad (44).

En España no se dispone de presentaciones de parches de 25 mg, como sí en otros países, para grandes fumadores. Las pautas de 25 mg o más están contempladas en la citada revisión Cochrane, de 2019 (33).

8.2. Vareniclina

Desarrollada por el laboratorio farmacéutico Pfizer y comercializada con el nombre de Champix® desde el año 2006, ha sido un fármaco ampliamente utilizado en cesación tabáquica, por su seguridad y efectividad, y financiado por el Sistema Nacional de Salud desde enero de 2020, hasta que en julio de 2021 se retiraron del mercado determinados lotes por detectarse niveles de n-nitroso-vareniclina por encima del límite aprobado por la FDA americana. En septiembre del mismo año, el laboratorio decidió retirar todos los lotes del mercado y suspender la fabricación. Por otra parte, en noviembre de 2021 ha caducado su patente.

8.2.1. Mecanismo de acción. Receptores implicados

El cerebro de los mamíferos expresa múltiples subtipos de receptores nicotínicos de acetilcolina, y entre los 20 conocidos, los alfa 4 beta 2 son ampliamente mayoritarios, en un 90%, y junto con los alfa 6 beta 2, son los que presentan una mayor afinidad por la nicotina. Ambos subtipos modulan la liberación de dopamina de las neuronas dopaminérgicas de la vía mesoaccumbens, que se considera esencial para la recompensa y la adicción (45).

Tres efectos farmacológicos parecen ser factores clave subyacentes a la eficacia para dejar de fumar: el grado de activación de los $\alpha 6\beta 2$, la desensibilización de los $\alpha 4\beta 2$ y $\alpha 6\beta 2$ (actividad



agonista) y la reducción de la ocupación de nicotina en los $\alpha 4\beta 2$ y $\alpha 6\beta 2$ (actividad antagonista). Ninguna actividad individual es dominante, y el nivel de eficacia para dejar de fumar depende del perfil de estas actividades logrado en dosis clínicas. Si bien la actividad agonista adecuada por sí sola es suficiente para un efecto clínico, como sucede con la TSN (46) (Fig. 4).

Vareniclina resulta ser agonista parcial de estos receptores alfa 4 beta 2, estimulando la actividad mediada por ellos, pero a nivel inferior al que produce la nicotina, por tanto insuficiente para la estimulación de la aparición de nuevos receptores, como ocurre al fumar, pero suficiente para aliviar el síndrome de abstinencia nicotínica. En presencia de nicotina se comporta como antagonista de la misma, con lo que se disminuye la liberación de diversos neurotransmisores como noradrenalina y sobretodo dopamina en el sistema de recompensa del núcleo accumbens, bloqueando la reacción placentera que el sujeto experimenta al fumar, de forma que una recaída puntual durante el tratamiento, tan frecuente, no producirá efecto placentero en el fumador (47).

Vareniclina es un fármaco bien tolerado, y sus efectos secundarios principales se compensan mediante un adecuado manejo. Náuseas y vómitos, administrándolo junto con las comidas, y el insomnio, evitando una toma nocturna. Idealmente, se recomienda que la primera toma se realice con el desayuno y la segunda con una comida lo más tarde posible, para mantener un intervalo horario correcto.

El tratamiento debe durar un mínimo de 12 semanas.

El estudio EAGLES despejó cualquier duda en cuanto a su utilización en pacientes psiquiátricos estables (48), y exceptuando niños, adolescentes, embarazo y lactancia (para los que no hay estudios), puede utilizarse en cualquier situación especial o comorbilidad (35).

Vareniclina es un derivado sintético de la citisina, alcaloide natural de la planta *Cytisus Laburnum*.

8.3. Citisina

En este contexto de pocas opciones terapéuticas farmacológicas disponibles, se comercializa en España, en noviembre de 2021, la Citisina, con el nombre comercial de Todacitan[®], por el laboratorio polaco Aflofarm.

Este alcaloide fue descubierto en 1818, aislado por primera vez en 1865, y sus acciones fueron documentadas como "cualitativamente indistinguibles de las de la nicotina" en 1912. Los soldados alemanes y rusos lo fumaban como un sustituto del tabaco accesible y barato durante la segunda guerra mundial, y se lanzó al mercado en Bulgaria en 1964 bajo la marca Tabex[®] (49).

Así pues, desde hace casi 60 años se utiliza en algunos países de Europa Central y del Este, y en algunos de Asia Central.

Pero en los países occidentales, es en los últimos 10 años que empiezan a aparecer estudios y metaanálisis que valoran su eficacia y seguridad (50).

La eficacia clínica frente a placebo, ya demostrada por West en 2011 (51), se confirma en diferentes metaanálisis publicados en los años 2013, 2016 y 2019 (52,53,54).

Para constatar la eficacia comparativa frente a los otros fármacos de elección, se dispone de un solo estudio frente a TSN (55) y dos frente a Vareniclina (56,57).

Tiene una fórmula química similar a la nicotina, comportándose como un agonista parcial selectivo de los receptores alfa4 beta2, en ausencia de nicotina, y como antagonista en su presencia, de forma parecida a su derivado vareniclina (46).

La posología es intensiva al principio, aunque el tratamiento dura sólo 25 días, y los efectos secundarios reportados durante tantos años de uso son mayoritariamente leves, aunque no se dispone de estudios de calidad al respecto.

La citisina se ha asociado con tasas inferiores de cefalea y náuseas que la vareniclina (53). Un reciente estudio confirma que citisina es un agonista muy débil de los receptores 5-HT3A, siendo vareniclina un agonista potente y completo de dicho receptor, precisamente el que bloquean selectivamente fármacos antieméticos como ondansetron. Ello lleva a que citisina ocasione náuseas y vómitos con mucha menor frecuencia que vareniclina (58).

Presenta la misma frecuencia que ésta frente a los trastornos del sueño, y se deben vigilar especialmente posibles efectos cardiovasculares como taquicardia o hipertensión.

Y, finalmente, una importante diferencia con vareniclina es su excreción urinaria: citisina se excreta inalterada por orina en un 64%, frente a un 94% en el caso de la vareniclina, lo que podría dar lugar a interacciones, siendo de relevancia la descrita con los fármacos antituberculosos (59).

9. CONCLUSIONES

-Se debe profundizar en las medidas de prevención que permitan luchar eficazmente contra el tabaquismo y la influencia de la industria tabacalera en nuestros jóvenes, así como en la investigación de nuevos tratamientos y la optimización en el manejo de los que se dispone actualmente.

-Es necesario estimular la formación del farmacéutico comunitario en tabaquismo y el desarrollo de servicios de tabaquismo en farmacia comunitaria operativos y eficaces, en colaboración con otros profesionales sanitarios, en el marco de la Atención Primaria de Salud.

-El tratamiento del tabaquismo debe llegar a todos los pacientes, pequeños y grandes fumadores, y ser posible la financiación por el Sistema Nacional de Salud de todos los tratamientos que son efectivos y seguros según la evidencia científica.



10. REFERENCIAS

1. The World Health Organization. The International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. 10th Revision. WHO: Geneva; 2010. Disponible en: https://www.who.int/classifications/icd/ICD10Volume2_en_2010.pdf
2. Jiménez-Ruiz CA, Fagerström KO. El tabaquismo como enfermedad crónica. Visión global. En: Jiménez-Ruiz CA, Fagerström KO, editores. Tratado de Tabaquismo. 3ª ed. Madrid: Grupo Aula Médica, S.L.; 2011. p.3. Disponible en: https://www.infodrogas.org/files/Tratado_de_Tabaquismo.pdf
3. Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones. Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas. Secretaría de Estado de Servicios Sociales. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Encuesta sobre Uso de Drogas en Enseñanzas Secundarias en España (ESTUDES) 1995-2019/2020 [Internet]. 2021 [Consultado el 13/03/2022]. Disponible en: https://pnsd.sanidad.gob.es/en/profesionales/sistemasInformacion/sistemaInformacion/pdf/2019-20_Informe_EDADES.pdf
4. Villalbí JR, Suelves JM, Martínez C, Valver de A, Cabezas C, Fernández E. El control del tabaquismo en España: situación actual y prioridades. Rev Esp Salud Pública. 2019;93: 15 de julio e2019070
5. Dare S, Mackay DF, Pell JP. Relationship between smoking and obesity: a cross-sectional study of 499,504 middle-aged adults in the UK general population [published correction appears in PLoS One. 2017; 12(2):e0172076]. PLoS One. 2015;10(4):e0123579. doi:10.1371/journal.pone.0123579
6. Carreras-Torres R, Johansson M, Haycock PC, Relton C L, Davey-Smith G, Brennan P, et al. Role of obesity in smoking behavior: Mendelian randomization study in UK Biobank. BMJ. 2018; 361:k1767. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.k1767>
7. Joehanes R, Just AC, Marioni RE, Pilling LC, Reynolds LM, Mandaviya PR, et al. Epigenetic Signatures of Cigarette Smoking. Circ Cardiovasc Genet. 2016; 9 (5) : 436 - 47. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001506
8. Wain LV, Shrine N, Miller S, Jackson VE, Ntalla I, Soler M, et al. Novel insights into the genetics of smoking behaviour, lung function, and chronic obstructive pulmonary disease (UK BiLEVE): a genetic association study in UK Biobank. Lancet Respir Med. 2015; 3(10):769-81. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00283-0
9. Erzurumluoglu A M, Liu M, Jackson VE, et al. Meta-analysis of up to 622,409 individuals identifies 40 novel smoking behaviour associated genetic loci. Mol Psychiatry. 2019; 24(1):1-18. doi:10.1038/s41380-018-0313-0
10. Harvey J, Chadi N, Canadian Paediatric Society. Preventing smoking in children and adolescents: Recommendations for practice and policy. Paediatr Child Health. 2016; 21(4):209-214. doi: 10.1093/pch/21.4.209
11. U.S. Department of Human and Health Services. National Institute of health (NIH). National Institute on Drug Abuse (NIDA). 2002 Apr; 11-4342(S). Actualizado 2010 Apr. El tabaquismo y los adolescentes [Internet]. 2010 [Consultado el 22/03/2022]. Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/adiccion-al-tabaco/el-tabaquismo-y-los-adolescentes>
12. Bourassa KJ, Moffitt TE, Ambler A, Hariri AR, Harrington H, Houts RM, Ireland D, Knodt A, Poulton R, Ramrakha S, Caspi A. Association of Treatable Health Conditions During Adolescence With Accelerated Aging at Midlife. JAMA Pediatr. 2022 Feb 21:e216417. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.6417.
13. Fa-Binefa M, Clará A, Pérez-Fernández S, Grau M, Décano IR, Marti-Lluch R, et al. Early smoking-onset age and risk of cardiovascular disease and mortality. Prev Med. 2019; 124:17-22. doi.org/10.1016/j.ypmed.2019.04.022
14. Eisenberg ME, Olson RE, Neumark-Sztainer D, Story M, Bearinger LH. Correlations Between Family Meals and Psychosocial Well-being Among Adolescents. Arch Pediatr Adolesc Med. 2004;158(8):792–796. doi:10.1001/archpedi.158.8.792
15. Aguiló MC, López AA. Adolescentes y tabaco. Propuesta de intervención. [Premio a mejor comunicación oral]. En: XVII Jornadas SEDET. 27, 28 y 29 de septiembre de 2018, Valencia.
16. Aguiló Juanola MC. Tabaquismo: aspectos novedosos para su abordaje y revisión actualizada de conceptos. Pharm Care Esp. 2020;22(5): 353-366.
17. De Granda-Orive JI, Jiménez-Ruiz CA, Solano-Reina S. World Health Organization Positioning. The Impact of Tobacco in the Environment: Cultivation, Curing, Manufacturing, Transport, and Third and Fourth-hand Smoking. [published online ahead of print, 2017 Nov 1]. Arch Bronconeumol. 2017; S0300-2896(17)30294-6. doi:10.1016/j.arbres.2017.09.003
18. Hang B, Sniijders AM, Huang Y, Schick SF, Wang P, Xia Y, et al. Early exposure to thirdhand cigarette smoke affects body mass and the development of immunity in mice. Sci Rep. 2017; 7:41915. [Published online 2017 Feb 3]. doi: 10.1038/srep41915
19. De Granda-Orive JI, López-Yepes L, Girón-Matute W, Granda-Beltrán AM, SolanoReina S, Jiménez-Ruiz CA, et al. Contaminación medioambiental por colillas del tabaco: el tabaco de cuarta mano. Prev Tab. 2016; 18:25-31
20. Schane RE, Ling PM, Glantz SA. Health Effects of Light and Intermittent Smoking: a review. Circulation. 2010; 121(13):1518-1522. doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.904235
21. Bjartveit K, TverdaA. Health consequences of smoking 1–4 cigarettes per day. Tob Control. 2005;14:315-320. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1748107/>
22. Inoue-Choi M, Liao LM, Reyes-Guzmán C, Hartge P, Caporaso N, Freedman ND. Association of Long-term, Low-Intensity Smoking



- With All-Cause and Cause-Specific Mortality in the National Institutes of Health-AARP and Health Study. *JAMA Intern Med.* 2017;177(1):87-95.
23. Hackshaw A, Morris JK, Boniface S, Tang JL, Milenkovic D. Low cigarette consumption and risk of coronary heart disease and stroke: meta-analysis of 141 cohort studies in 55 study reports. *BMJ.* 2018;24(1):360:i5855.
 24. Oelsner EC, Balte PP, Bhatt SP, Cassano PA, Couper D, Folsom AR, et al. Lung function decline in former smokers and low-intensity current smokers: a secondary data analysis of the NHLBI Pooled Cohorts Study. *Lancet Respir Med.* 2020;8(1):34-44. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30276-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30276-0)
 25. Gaztelurrutia L, Gómez JC, Aguiló MC, Ríos J, Sicilia PL, Satué E, et al. Rol del farmacéutico comunitario como agente de salud en la cesación tabáquica. *Sociedad Española de Farmacia Familiar y Comunitaria.* Ed XXX Madrid, 2020
 26. Govern de les Illes Balears. Conselleria de Salut i Consum. Direcció General de Salut Pública i Participació. *Tabaquisme de les Illes Balears.* [Internet]. 2022 [Consultado el 13/05/2022]. Disponible en: <https://www.caib.es/sites/taquisme/ca/portada-86826/?campa=yes>
 27. Aguiló Juanola, MC. Introducción a la calidad en farmacia comunitaria (II): la zona de atención personalizada (ZAP). *Pharm Care Esp* 2007; 9(2):91-96
 28. Aguiló Juanola MC, Serantes García L. Guía de actuación farmacéutica. *La Terapia Sustitutiva con Nicotina (TSN).* Madrid: IMC-SEFAC;2021
 29. Aguiló MC. Actualización en el abordaje del tabaquismo. *Interacciones del tabaco con los tratamientos farmacológicos.* Medicina Balear. 2018; 33(3):35-40. doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.33.03.35
 30. Gaztelurrutia L, Aguiló MC, Casasola M, De Simón R, Díaz-Maroto JL, Pérez V. Expertos sanitarios de distintos ámbitos de la atención primaria redactan un decálogo de consenso para el abordaje multidisciplinar del tabaquismo [Internet]. 2019 [Consultado el 24/03/2022]. Disponible en: <https://www.sefac.org/notas-de-prensa/decalogo-para-el-abordaje-multidisciplinar-del-tabaquismo>
 31. Fiore MC, Jaén CR, Baker TB, et al. Treating Tobacco Use and Dependence: 2008 Update. *Clinical Practice Guideline.* Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. May 2008. Traducción al español: Guía de tratamiento del tabaquismo. Jiménez Ruiz CA, Jaén CR (Coordinadores de la traducción). *Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. SEPAR.* Mayo 2010.
 32. Hughes JR. An updated algorithm for choosing among smoking cessation treatments. *Journal of Substance Abuse Treatment* 2013;(45):215-221
 33. Lindson N, Chepkin SC, Ye W, Fanshawe TR, Bullen C, Hartmann-Boyce J. Different doses, durations and modes of delivery of nicotine replacement therapy for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;(4):CD013308.
 34. Jiménez Ruiz CA, Riesco Miranda JA, de Granda Orive JI, Solano Reina S, Signes-Costa J, Díaz-Maroto Muñoz JL, et al. Aportaciones del estudio Eagles y del Cats al tratamiento del tabaquismo. Algoritmo para el tratamiento del tabaquismo. En: *Tratado de Tabaquismo (4ª edición)* [Internet]. Jiménez-Ruiz CA, Fagerström KO (eds). EiOSalud 2021. Disponible en: <http://tratadodetabaquismo.com/>
 35. López-González AA, Gayá M (coords.). *Guía de intervención individual para el tratamiento del tabaquismo.* Palma: Direcció General de Salut Pública i Participació. Conselleria de Salut, Govern de les Illes Balears. 2017.
 36. Hartmann-Boyce J, Chepkin SC, Ye W, Bullen C, Lancaster T. Nicotine replacement therapy versus control for smoking cessation (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;(5): CD000146. DOI: 10.1002/14651858.
 37. Ayesta FJ, Martín F. PIUFET 3.0. Tema B27. *Terapia sustitutiva con nicotina (TSN).* En: Programa Interuniversitario de Formación de Especialistas en Tabaquismo. Universidad de Cantabria. Santander; 2018.
 38. Jiménez-Ruiz, CA. Tratamiento Farmacológico para ayudar a dejar de fumar. En: *Curso Diagnóstico y Tratamiento del Tabaquismo.* Madrid: Pharma Academy Johnson & Johnson; 2012.
 39. *Nicotina sin tabaco. Reducción de los daños del tabaco.* Informe del Grupo Consultivo sobre Tabaco del Royal College of Physicians de Londres. Abril 2016. Disponible en: <https://www.anesvap.es/docs/RCP-key-chapters-Spanish-Sept-2016-1.pdf>
 40. Callejas FJ, Cruz J, Tornero AI. Abordaje del tabaquismo en situaciones especiales. En: De Higes EB, Perera L (coords.). *Manejo diagnóstico y tratamiento del tabaquismo en la práctica clínica diaria.* Manual SEPAR de procedimientos nº 32. Madrid: RESPIRA-Fundación Española del Pulmón-SEPAR Editores; 2015:76-86. [Consultado el 13/04/2022]. Disponible en: <https://www.sogapar.info/wp-content/uploads/2016/12/12-Diagnostico-y-tratamiento-tabaquismo-SEPAR.pdf>
 41. Claire R, Chamberlain C, Davey MA, Cooper SE, Berlin I, Leonardi-Bee J, et al. Pharmacological interventions for promoting smoking cessation during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;3(3):CD010078.
 42. Callejas FJ, Cruz J, Tornero AI. Abordaje del tabaquismo en situaciones especiales. En: De Higes EB, Perera L (coords.). *Manejo diagnóstico y tratamiento del tabaquismo en la práctica clínica diaria.* Manual SEPAR de procedimientos nº 32. Madrid: RESPIRA-Fundación Española del Pulmón-SEPAR Editores; 2015:76-86. [Consultado el 13/04/2022]. Disponible en: <https://www.sogapar.info/wp-content/uploads/2016/12/12-Diagnostico-y-tratamiento-tabaquismo-SEPAR.pdf>



- tado el 18/04/2022]. Disponible en: <https://www.sogapar.info/wp-content/uploads/2016/12/12-Diagnostico-y-tratamiento-tabaquismo-SEPAR.pdf>.
43. Moolchan ET, Robinson ML, Ernst M, Cadet JL, Pickworth WB, Heishman SJ, et al. Safety and efficacy of the nicotine patch and gum for the treatment of adolescent tobacco addiction. *Pediatrics*. 2005; 115(4):e407-e414. doi:10.1542/peds.2004-1894
 44. Krupski L, Cummings KM, Hyland A, Carlin-Menter S, Toll BA, Mahoney MC. Nicotine replacement therapy distribution to light daily smokers calling a quitline. *Nicotine Tob Res*. 2013;15(9):1572-1577. doi:10.1093/ntr/ntt021
 45. Grady SR, Drenan RM, Breining SR, Yohannes D, Wageman CR, Fedorov NB, McKinney S, Whiteaker P, Bencherif M, Lester HA, Marks MJ. Structural differences determine the relative selectivity of nicotinic compounds for native $\alpha 4 \beta 2^*$, $\alpha 6 \beta 2^*$, $\alpha 3 \beta 4^*$ and $\alpha 7$ -nicotine acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*. 2010 Jun;58(7):1054-66. doi: 10.1016/j.neuropharm.2010.01.013.
 46. Rollema H, Hurst RS. The contribution of agonist and antagonist activities of $\alpha 4 \beta 2^*$ nAChR ligands to smoking cessation efficacy: a quantitative analysis of literature data. *Psychopharmacology* 2018 Sep;235(9):2479-2505. doi: 10.1007/s00213-018-4921-9.
 47. Honorato J. Tabaquismo y farmacología. Discurso de ingreso en la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya. Gráficas Castuera, Pamplona 2013.
 48. Anthenelli RM, Benowitz NL, West R, St Aubin L, McRae T, Lawrence D, et al. Neuropsychiatric safety and efficacy of varenicline, bupropion, and nicotine patch in smokers with and without psychiatric disorders (EAGLES): a double-blind, randomised, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*. 2015;387(10037):2507-20
 49. Prochaska JJ, Das S, Benowitz NL. Cytisine, the world's oldest smoking cessation aid. *BMJ* 2013; 347 :f5198 doi:10.1136/bmj.f5198
 50. Jiménez-Ruiz CA, Cicero Guerrero A, Cristóbal Fernández M, Villar Laguna C. Citisina: nuevo fármaco para dejar de fumar en España. *Prev Tab*. 2021; 23(2):58-64.
 51. West R, Zatonski W, Cedzynska M, Lewandowska D, Pazik J, Aveyard P, et al. Placebo-controlled trial of cytosine for smoking cessation. *N Engl J Med*. 2011; 365: 1193-200.
 52. Hajek P, McRobbie H, Myers K. Efficacy of cytosine in helping smokers quit: systematic review and meta-analysis. *Thorax*. 2013; 68: 1037-42.
 53. Cahill K, Lindson-Hawley N, Thomas KH, Fanshawe TR, Lancaster T. Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016; (5): CD006103.
 54. Tutka P, Vinnikov D, Courtney RJ, Benowitz NL. Cytisine for nicotine addiction treatment: A review of pharmacology, therapeutics and an update of clinical trial evidence for smoking cessation. *Addiction*. 2019; 114: 1951-69.
 55. Walker N, Howe C, Glover M, McRobbie H, Barnes J, Nosa V, et al. Cytisine versus nicotine for smoking cessation. *N Engl J Med*. 2014; 371: 2353-62.
 56. Courtney RJ, McRobbie H, Tutka P, Weaver NA, Petrie D, Mendelsohn CP, et al. Effect of cytosine vs varenicline on smoking cessation a randomized clinical trial. *JAMA*. 2021; 326: 56-64.
 57. Walker N, Smith B, Barnes J, Verbiest M, Parag V, Pokhrel S, et al. Cytisine versus varenicline for smoking cessation in New Zealand indigenous Māori: a randomized controlled trial. *Addiction*. 2019; 114: 344-52.
 58. Jiménez-Ruiz CA, R. De Simón Gutiérrez R, Signes-Costa Miñana J, Sellarés Torres J, Díaz-Maroto Muñoz JL, Riesco Miranda JA, et al. Protocolo asistencial clínico-psicológico para el tratamiento del tabaquismo con citisina. *Prev Tab*. 2021; 23(4):139-145.
 59. Ficha técnica de Todacitan® 1,5 mg. 2021. [Consultado el 13/04/2022]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/83407/FT_83407.pdf

Si desea citar nuestro artículo:

Actualización en tabaquismo, abordaje desde la farmacia comunitaria y tratamientos farmacológicos de elección

Miguel C. Aguiló Juanola

An Real Acad Farm [Internet].

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 3 (2022) · pp. 311-321

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.03.05>

FÁRMACOS DE NUEVA APROBACIÓN NEWLY APPROVED DRUGS

FÁRMACOS NOVEDOSOS AUTORIZADOS RECIENTEMENTE POR EMA Y FDA (3º TRIMESTRE DE 2022)

NOVEL DRUGS RECENTLY AUTHORIZED BY EMA AND FDA (Q3, 2022)

Santiago Cuéllar Rodríguez

Real Academia Nacional de Farmacia

corresponding author: santiago.cuellar.rodriguez@gmail.com

NOTICIAS

EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY)

(A) TRACTO ALIMENTARIO Y METABOLISMO: Avalglucosidasa Alfa (Nexviadyme®): enfermedad de Pompe; Eladocagene Exuparvovec (Upstaza®): deficiencia de L-aminoácido descarboxilasa aromática (AADC); Lonafarnib (Zokinvy®): progeria de Hutchinson-Gilford; Olipudasa Alfa (Xenpozyme®): déficit de esfingomielinasa ácida (ASMD). (B) SANGRE Y SISTEMA HEMATOPOYÉTICO: Eptacog Beta activado (Cevenfacta®): hemofilia; Valoctogene Roxaparvovec (Roctavian®): hemofilia. (D) DERMATOLOGÍA: Abedul, extracto (Filsuvez®): epidermolisis bullosa. (G) SISTEMA GENITOURINARIO Y HORMONAL SEXUALES: Linzagolix (Yselty®): miomas uterinos. (J) ANTIINFECCIOSOS SISTÉMICOS: Vacuna COVID-19 ARN bivalente (Comirnaty Original/Omicron BA.1; Spikevax Bivalent Original/Omicron BA.1): profilaxis de la COVID-19; Vacuna COVID-19 inactivada (Vacuna COVID-19 Valneva®): profilaxis de la COVID-19; Vacuna Hepatitis B recombinante (Prehevbri®): profilaxis de la hepatitis B; Vacuna Neumococo polisacárida conjugada 20-valente (Apexxnar®): profilaxis de la enfermedad invasiva y la neumonía causadas por *Streptococcus pneumoniae*; Lenacapavir (Sunlenca®): VIH/SIDA. (L) AGENTES ANTINEOPLÁSICOS E INMUNOMODULADORES: Capmatinib (Tabrecta®): cáncer de pulmón; Asciminib (Scemblix®): leucemia mieloide crónica; Teclistamab (Tecvayli®): mieloma múltiple; Edgartigimod Alfa (Vyvgart®): miastenia gravis. (N) SISTEMA NERVIOSO: Lasmiditan (Rayvow®): migraña.

FDA (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION)

(A) TRACTO ALIMENTARIO Y METABOLISMO: Vutrisiran (Amvuttra®): amiloidosis. (L) AGENTES ANTINEOPLÁSICOS E INMUNOMODULADORES: Spesolimab (Spevigo®): psoriasis; Deucravacitinib (Sotyktu®): psoriasis; Eflapegrastim (Rolontis®): neutropenia. (M) SISTEMA MÚSCULO-ESQUELÉTICO: Toxina Daxibotulínica A (Daxxify®): arrugas glabellares.





1. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA)

(A) Tracto alimentario y metabolismo

Avalglucosidasa Alfa (Nexviadyme®) Genzyme

Indicación: Tratamiento enzimático de sustitución a largo plazo para el tratamiento de pacientes con enfermedad de Pompe (déficit de Alglucosidasa ácida).

Tipo: Autorizado el 24-6-2022, como medicamento huérfano; autorizado previamente en Estados Unidos (6-8-2021) como medicamento huérfano. Medicamento biológico, constituido por alglucosidasa ácida humana obtenida mediante tecnología de ADN recombinante.

Mecanismo: La avalglucosidasa alfa es una alglucosidasa ácida humana (AGA) recombinante que proporciona una fuente exógena de AGA. La avalglucosidasa alfa es una modificación de la alglucosidasa alfa en la que aproximadamente 7 estructuras de hexamano, cada una de las cuales incluye 2 mitades terminales de manosa-6-fosfato (bis-M6P), se conjugan con residuos de ácido siálico oxidado en la alglucosidasa alfa. La avalglucosidasa alfa presenta 15 veces más mitades de manosa-6-fosfato (M6P) en comparación con la alglucosidasa alfa natural. La unión a los receptores M6P en la superficie celular se produce a través de grupos de carbohidratos en la molécula de AGA, después de lo cual se internaliza y transporta a los lisosomas, donde sufre una división proteolítica que provoca un aumento de la actividad enzimática para degradar el glucógeno.

Eficacia clínica: Estudio multinacional, multicéntrico, aleatorizado y doble ciego para comparar la eficacia y la seguridad de Nexviadyme y alglucosidasa alfa una vez cada dos semanas durante 12 meses (49 semanas) en 100 pacientes de 16 a 78 años con enfermedad de Pompe sin tratamiento previo al inicio del tratamiento. El estudio incluyó una fase abierta, a largo plazo, de seguimiento de hasta 5 años para todos los pacientes, en la que los pacientes del grupo de alglucosidasa alfa cambiaron al tratamiento con Nexviadyme. La variable primaria del estudio fue el cambio en el % previsto de la capacidad vital forzada (CVF) en posición erguida desde el momento basal hasta los 12 meses (semana 49): 2,89% (Nexviadyme) vs 0,46% (alglucosidasa alfa). La variable secundaria fue el cambio en la distancia total caminada en 6 minutos (6-Minute Walk Test) desde el momento basal hasta los 12 meses (semana 49): 32,21 vs. 2,19 m.

Eventos adversos: Los más comunes son prurito (9,4%), erupción cutánea (8%), cefalea (7,2%), urticaria (6,5%), fatiga (6,5%), náuseas (5,8%) y escalofríos (5,1%).

Eladocagene Exuparvovec (Upstaza®) PTC

Indicación: Tratamiento de pacientes de 18 meses de edad y mayores con un diagnóstico clínico, molecular y genéticamente confirmado de deficiencia de L-aminoácido descarboxilasa aromática (AADC) con un fenotipo grave.

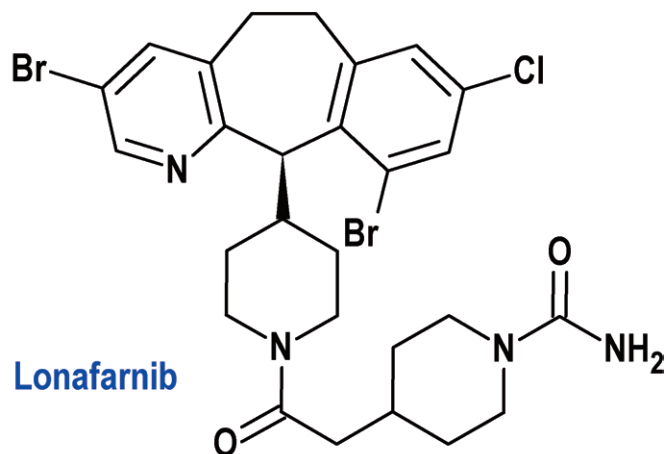
Tipo: Autorizado en condiciones excepcionales el 18-7-2022, como medicamento huérfano. Medicamento de terapia avanzada (terapia génica), constituido por $2,8 \times 10^{11}$ genomas vectorizados/0.5 mL, que expresa la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa humana (hAADC). Se trata de un vector recombinante no replicable basado en el virus adenoasociado serotipo 2 (AAV2) que contiene el ADNc del gen de la dopa descarboxilasa (DDC) humana bajo el control del promotor inmediato del citomegalovirus.

Mecanismo: La deficiencia de AADC es un defecto congénito de la biosíntesis de neurotransmisores con una herencia autosómica recesiva en el gen de la dopa descarboxilasa (DDC). El gen DDC codifica la enzima AADC, que convierte L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) en dopamina. Las mutaciones en el gen DDC conllevan una reducción o ausencia de la actividad de la enzima AADC, lo cual provoca una reducción en los niveles de dopamina y el fracaso de la mayoría de los pacientes con deficiencia de AADC para alcanzar los objetivos del desarrollo. Eladocagén exuparvovec es una terapia génica basada en vectores AAV2 recombinantes que contienen el cADN humano del gen DDC. Tras inyectarlo en el putamen, el medicamento da lugar a la expresión de la enzima AADC y a la posterior producción de dopamina y, en consecuencia, al desarrollo de la función motora en los pacientes con carencia de AADC tratados.

Eficacia clínica: Dos estudios clínicos que incluyeron a 20 pacientes con deficiencia grave de AADC, que fueron tratados con una dosis total de $1,8 \times 10^{11}$ o $2,4 \times 10^{11}$ genomas vectorizados en una única sesión quirúrgica. La variable principal de eficacia se determinó con la versión 2 de la Escala de Desarrollo Motor de Peabody (PDMS-2), que evalúa el desarrollo motor del niño hasta la edad de desarrollo de 5 años. La variable se evaluó a los 24 meses de la terapia génica, siendo la media de los mínimos cuadrados (LS) del cambio en la puntuación total de PDMS-2 con respecto al inicio de 104,4 puntos; la mejora con respecto al inicio en la puntuación total de PDMS-2 a los 12 meses de tratamiento fue de 76,1 puntos y se mantuvo hasta los 60 meses, alcanzando 108,2 puntos. Los pacientes que recibieron eladocagén exuparvovec a una edad más temprana mostraron una respuesta más rápida y un nivel final superior.

Eventos adversos: Los más comunes son insomnio, irritabilidad y discinesia. El más frecuente fue la discinesia (86%) y fue predominante durante los 2 primeros meses después del tratamiento.

Lonafarnib (Zokinvy®) EigerBio



Lonafarnib

Indicación: Tratamiento de pacientes a partir de los 12 meses de edad con un diagnóstico confirmado genéticamente de síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford, o una laminopatía progeroide con déficit de procesamiento asociada a una mutación heterocigótica de LMNA con acumulación de proteínas similares a la progerina o una mutación homocigótica o heterocigótica compuesta de ZMPSTE24.

Tipo: Autorizado el 18-7-2022, como medicamento huérfano y en circunstancias excepcionales; autorizado previamente en Estados Unidos (20-11-2020) como medicamento huérfano.

Mecanismo: La progeria es una anomalía genética progresiva que acelera el proceso de envejecimiento de los niños; forma parte del grupo de laminopatías, enfermedades genéticas debidas a mutaciones en el gen LMNA, que codifica para las láminas A y C, proteínas que componen la lámina que envuelve internamente el núcleo celular. La forma alterada de la proteína – conocida como progerina – lleva a la disrupción del ensamblaje normal de la envoltura nuclear, la función nuclear y la funcionalidad de la lamina A. La acumulación de progerina y proteínas similares a la progerina en las células dentro de las paredes de los grandes vasos sanguíneos provoca inflamación y fibrosis. Lonafarnib inhibe la farnesiltransferasa, impidiendo el proceso bioquímico de farnesilación y la posterior acumulación de progerina y proteínas similares a la progerina en la membrana nuclear interna, promoviendo así el mantenimiento de la integridad y la función celular.

Eficacia clínica: Dos estudios de fase 2, abiertos, de un solo centro y de un solo brazo. El primero se hizo sobre 28 pacientes que recibieron lonafarnib durante 24 a 30 meses con dosis iniciales de 115 mg/m²/12 h; tras 4 meses de tratamiento, a los que toleraron el tratamiento se les aumentó la dosis a 150 mg/m²/12 h a lo largo de 30 meses; tras completarlo, 26 fueron incorporados a un nuevo

estudio en dos fases; en la primera recibieron tratamiento durante 5 años y en la segunda otros 3 adicionales. El segundo estudio contó con 35 pacientes, que recibieron 150 mg/m²/12 h de lonafarnib durante 12 a 36 meses. La variable primaria de eficacia fue la supervivencia sobre el conjunto de 62 pacientes tratados en ambos estudios, en una comparación histórica con pacientes no tratados. La esperanza de vida media de los pacientes tratados aumentó en un promedio de 0,44-0,47 años durante los primeros tres años de seguimiento y 4,3 años durante el último tiempo de seguimiento (11 años en total) en comparación con los pacientes no tratados.

Eventos adversos: Los más comunes son vómitos (86%), diarrea (78%), elevación de la aspartato aminotransferasa (64%), elevación de la alanina aminotransferasa (50%), disminución del apetito (41%), náuseas (38%), dolor abdominal (35%), fatiga (29%), pérdida de peso (27%), estreñimiento (18%) e infección del tracto respiratorio superior (11%). La mayoría se produjeron en las primeras 4 primeras semanas del tratamiento y, en general, disminuyeron de forma constante al aumentar la duración del tratamiento.

Olipudasa Alfa (Xenpozyme®) Genzyme

Indicación: Terapia enzimática de sustitución para el tratamiento de las manifestaciones no relacionadas con el sistema nervioso central (SNC) del déficit de esfingomielinasa ácida (Acid Sphingomyelinase Deficiency, ASMD) en pacientes pediátricos y adultos con tipo A/B o tipo B.

Tipo: Autorizado el 24-6-2022 como medicamento huérfano. Medicamento biológico; es una esfingomielinasa ácida humana obtenida mediante tecnología de ADN recombinante.

Mecanismo: Tratamiento de restauración exógena para paliar el déficit endógeno de esfingomielinasa ácida, con el fin de reducir la acumulación de esfingomielina en órganos de pacientes con déficit de esfingomielinasa ácida (ASMD).

Eficacia clínica: Tres estudios clínicos, uno en pacientes adultos (de fase 2/3, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo), otro en pacientes pediátricos y un estudio de extensión en pacientes adultos y pediátricos, en los que participaron un total de 61 pacientes con ASMD. Las dos variables primarias de eficacia fueron las variaciones porcentuales de la capacidad de difusión pulmonar para el monóxido de carbono (22 vs. 3%, placebo) y del volumen del bazo (-39,4 vs +0,5%, placebo), desde el inicio hasta la semana 52.

Eventos adversos: Los más comunes son cefalea (32%), pirexia (25%), urticaria (22%), náuseas (20%), vómitos (17%), dolor abdominal (15%), mialgia (12%), prurito (10%) y aumento de la proteína C reactiva (10%).



(B) Sangre y sistema hematopoyético

Eptacog Beta activado (Cevenfacta®) Laboratoire français du Fractionnement et des Biotechnologies (LFB)

Indicación: Tratamiento en adultos y adolescentes (a partir de los 12 años) de episodios de sangrado y para la prevención de hemorragias en pacientes sometidos a cirugía o procedimientos invasivos en pacientes con hemofilia congénita con inhibidores de alta respuesta a los factores de coagulación VIII o IX (≥ 5 Unidades Bethesda, UB), así como en pacientes con hemofilia congénita con títulos bajos de inhibidores (UB < 5), pero que se espera que tengan una respuesta anamnésica elevada a la administración de factor VIII (FVIII) o factor IX (FIX) o bien que sean refractarios a una mayor dosis de FVIII o FIX.

Tipo: Autorizado el 15-7-2022. Medicamento biológico, con estructura casi idéntica a la del Factor VII de coagulación humano producido a partir de leche de conejo mediante una tecnología de ADN recombinante.

Mecanismo: En condiciones normales, el FVIIa es el factor que inicia la coagulación tras su interacción con el factor tisular (FT) en la superficie celular. Eptacog Beta activado actúa como el factor de coagulación VIIa activando el factor X, que inicia el proceso de coagulación y, por lo tanto, controla el sangrado. Dado que el factor VII actúa directamente sobre el factor X, independientemente de los factores VIII y IX, el medicamento puede utilizarse para restablecer la hemostasia tanto en ausencia como en presencia de inhibidores. Eficacia clínica: Tres estudios clínicos de fase 3 en un total de 60 pacientes de sexo masculino con hemofilia congénita A o B con inhibidores. Como variable principal de valoración de la eficacia clínica se utilizó la proporción de episodios de sangrado tratados con éxito con una respuesta «buena» o «excelente» (usando una escala de evaluación de cuatro puntos), independientemente de la gravedad, a 12 horas después de la administración inicial de este medicamento: 85% (81-90%) en uno de los estudios y 63% (61-66%) en otro; en el tercero la variable principal de valoración fue el porcentaje de cirugías u otros procedimientos invasivos con una respuesta «buena» o «excelente» al tratamiento 48 (± 4) horas después de la última administración de este medicamento: 82%.

Eventos adversos: Los más comunes (todos ellos con una incidencia de 1,3%) son molestias en el lugar de la inyección, hematoma en el lugar de la infusión, hematoma posoperatorio, reacción relacionada con la infusión, aumento de la temperatura corporal, mareos y cefalea.

Valoctogene Roxaparvoec (Roctavian®) Biomarin

Indicación: Tratamiento de la hemofilia A (deficiencia congénita de factor VIII) grave en pacientes adultos sin antecedentes de inhibidores del factor VIII y sin anticuerpos específicos contra el virus adenoasociado de serotipo 5 (AAV5) detectables.

Tipo: Autorizado condicionalmente el 24-8-2022, como medicamento huérfano. Medicamento de terapia avanzada (terapia génica) que expresa la variante SQ del factor de coagulación humano VIII (hFVIII-SQ) con el dominio B eliminado bajo el control de un promotor específico del hígado. Es un vector vírico adenoasociado de serotipo AAV5 recombinante y que no puede replicarse.

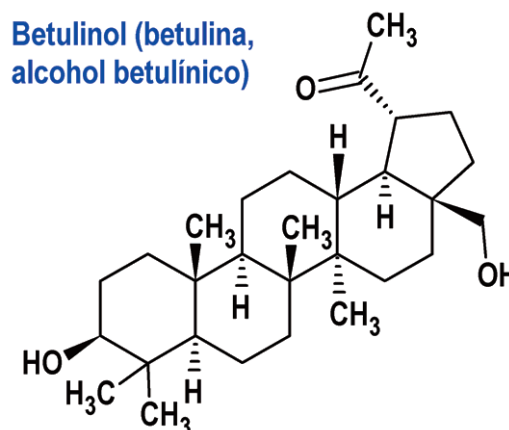
Mecanismo: Terapia génica basada en el vector vírico adenoasociado de serotipo 5 (AAV5) que, controlado por un promotor específico del hígado, causa la expresión de la variante SQ de un factor de coagulación humano VIII recombinante (hFVIII-SQ) con el dominio B eliminado. El hFVIII-SQ expresado reemplaza el factor de coagulación VIII ausente, necesario para la hemostasia eficaz. Después de la perfusión de valoctocogén roxaparvoec, el ADN del vector se procesa in vivo para formar transgenes episomales de longitud completa que persisten como las formas de ADN estables que respaldan la producción de hFVIII-SQ a largo plazo.

Eficacia clínica: Ensayo de fase 3 abierto y de un solo brazo, que incluyó a 123 pacientes adultos (mediana 30 años), con un seguimiento medio de 122 semanas. La variable principal de eficacia fue el cambio respecto al inicio en la actividad de factor VIII durante la semana 104 (2 años) después de la perfusión del medicamento: 22,7 UI/dl.

Eventos adversos: Los más comunes son aumento de los niveles de ALT (80%), AST (67%), LDH (54%), náuseas (37%) y cefalea (35%).

(D) Dermatología

Abedul, extracto (Filsuvez®) Amryt



Indicación: Tratamiento de heridas de espesor parcial (HEP) asociadas a la epidermolisis bullosa (EB) distrófica y juntural en pacientes de 6 meses o mayores.

Tipo: Autorizado el 21-6-2022, como medicamento huérfano. Extracto seco y refinado de la corteza de dos especies de abedul (*Betula pendula* Roth y *Betula pubescens* Ehrh), equivalente a 0,5-1,0 g de corteza de abedul, conteniendo 84-95 mg de una mezcla de triterpenos compuesta por betulina, ácido betulínico, eritrodio, lupeol y ácido oleanólico.

Mecanismo: Modula los mediadores inflamatorios y activan las vías intracelulares que intervienen en la diferenciación y la migración de los queratinocitos, así como en la curación y el cierre de las heridas, aunque se desconoce el mecanismo específico de acción en la cicatrización de heridas.

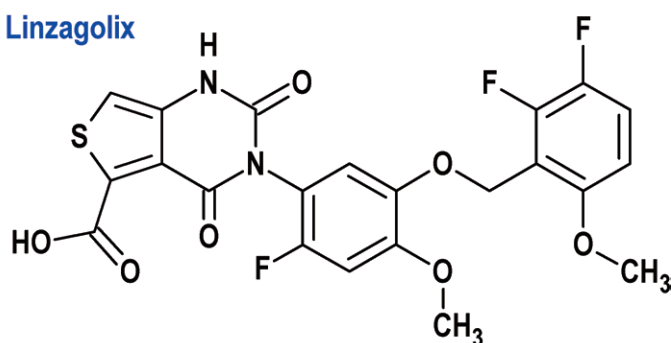
Eficacia clínica: Estudio de fase 3, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo en 223 adultos y niños, durante 90 días. La variable principal de eficacia fue la proporción de pacientes con primer cierre completo de la herida objetivo en 45 días: 41,3% vs 28,9% (placebo).

Eventos adversos: Los más comunes son complicaciones – aumento del tamaño, reapertura y dolor – en la herida (11,6% de los pacientes con EB y 2,9% con otras HEP), reacción en el lugar de aplicación (5,8% con EB), infecciones de la herida (4,0% con EB), prurito (3,1% con EB y 1,3% con otras HEP), dolor cutáneo (2,5% con otras HEP) y reacciones de hipersensibilidad (1,3% con EB).

(G) Sistema genitourinario y hormonal sexuales

Linzagolix (Yselyt®) ObsEva

Linzagolix



Indicación: Tratamiento de los síntomas moderados a graves de los miomas uterinos en mujeres adultas en edad fértil.

Tipo: Autorizado el 14-06-2022.

Mecanismo: Antagonista selectivo del receptor de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que inhibe la señalización endógena de la GnRH al unirse de forma competitiva a los receptores

de la GnRH en la hipófisis, modulando así el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. Provoca una supresión dependiente de la dosis de la hormona luteinizante (lutropina, LH) y la hormona foliculo-estimulante (folitropina, FSH), lo que lleva a una disminución de las concentraciones sanguíneas de estradiol y progesterona. Dado que los fibromas uterinos se asocian con sangrado menstrual abundante, el principal beneficio del medicamento es una menor pérdida de sangre mensual.

Eficacia clínica: Dos estudios de fase 3, aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo, en los que participaron 511 y 501 mujeres, respectivamente, de 52 semanas de tratamiento y 24 semanas de seguimiento posterior, con dosis de linzagolix de 100 mg y 200 mg, bien solo o con tratamiento hormonal complementario concomitante (THC: 1 mg de estradiol/0,5 mg de acetato de noretisterona). La variable principal de eficacia fue la respuesta positiva, definida como una pérdida – por ciclo – de sangre menstrual ≤ 80 ml y una reducción ≥ 50 % con respecto al momento basal durante los últimos 28 días previos a la semana 24: Placebo (29-35%); 100 mg (56%); 100 mg + THC (66-77%); 200 mg (71-78%); 200 mg + THC (76-94%).

Eventos adversos: Los más comunes son sofocos y dolores de cabeza.

(J) Antiinfecciosos sistémicos

Vacuna COVID-19 ARN bivalente Original/Omicron BA.1 (Comirnaty Original/Omicron BA.1®) Pfizer; (Spikevax Bivalent Original/Omicron BA.1®) Moderna

Vacunas adaptadas para ampliar la protección frente a la COVID-19, autorizadas el 1-9-2022 para su uso en adultos y adolescentes a partir de 12 años, al menos 3 meses después de la vacunación primaria o una dosis de refuerzo con una vacuna COVID-19, con el fin de atacar la subvariante Omicron BA.1 además de la cepa original de SARS-CoV-2. Los estudios demostraron que Comirnaty Original/Omicron BA.1 y Spikevax bivalente Original/Omicron BA.1 pueden desencadenar fuertes respuestas inmunitarias contra Omicron BA.1 y la cepa SARS-CoV-2 original en personas previamente vacunadas. En particular, fueron más eficaces para desencadenar respuestas inmunitarias contra la subvariante BA.1 que las vacunas originales. Asimismo, el Comité de Medicamentos Humanos de la EMA (CHMP) recomendó el día 12 de septiembre autorizar una vacuna bivalente adaptada dirigida a las subvariantes BA.4 y BA.5 de Omicron además de la cepa original de SARS-CoV-2, Comirnaty Original/Omicron BA.4-5, también para uso en personas mayores de 12 años que han recibido al menos un ciclo primario de vacunación contra COVID-19. El CHMP basó su opi-



nión en particular en los datos clínicos disponibles con Comirnaty Original/Omicron BA.1. Los efectos secundarios observados con las vacunas adaptadas fueron comparables a los observados con las originales y, por lo general, fueron leves y de corta duración.

Comirnaty Original/Omicron BA.1: Un estudio en adultos mayores de 55 años que habían recibido previamente 3 dosis de Comirnaty (vacunación primaria y un refuerzo) mostró que la respuesta inmune a la subvariante Omicron BA.1 fue mayor después de una segunda dosis de refuerzo de Comirnaty Original/Omicron BA.1 que después de una segunda dosis de la vacuna Comirnaty original (medida por el nivel de anticuerpos contra Omicron BA.1). Además, la respuesta inmunitaria a la cepa SARS-CoV-2 original fue comparable para ambas vacunas. En el estudio participaron más de 1.800 personas, de las cuales unas 300 recibieron Comirnaty Original/Omicron BA.1 en su composición final. Otro estudio en el que participaron más de 600 personas de entre 18 y 55 años que habían recibido previamente 3 dosis de Comirnaty mostraron que la respuesta inmunitaria a Omicron BA.1 fue mayor en las personas que recibieron un refuerzo con una vacuna que solo contenía Omicron BA.1 que en los que recibieron un refuerzo con la vacuna Comirnaty original. Adicionalmente, el CHMP (Committee of Human Medicinal Products) de la EMA ha recomendado la autorización de una vacuna bivalente adaptada específicamente dirigida a las subvariantes BA.4 y BA.5 de Omicron (Comirnaty Original/Omicron BA.4-5).

Spikevax bivalente Original/Omicron BA.1: Un estudio en el que participaron más de 800 adultos a partir de los 18 años, que encontró que una dosis de refuerzo de Spikevax bivalente Original/Omicron BA.1 indujo una respuesta inmunitaria más fuerte contra la cepa SARS-CoV-2 y la subvariante Omicron BA.1 en comparación con una dosis de refuerzo de la vacuna Spikevax original. El estudio comparó el nivel de anticuerpos en personas vacunadas previamente con una serie primaria y una dosis de refuerzo de Spikevax, y que recibieron una segunda dosis de refuerzo de Spikevax o Spikevax bivalente Original/Omicron BA.1.

El Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) consideran que el uso de las vacunas COVID-19 adaptadas aportan una cantidad superior de anticuerpos capaces de neutralizar la variante Omicron BA.1, en comparación con las vacunas monovalentes actuales basadas en la cepa original. Además, los anticuerpos generados por estas vacunas adaptadas parecen ser capaces de neutralizar otros linajes y sublinajes de Omicron, incluidos BA.2, BA.2.75 y BA.5, de manera más eficiente que las vacunas actuales, aunque actualmente se desconoce en qué medida estas mejoras en la respuesta inmune hacia los linajes Omicron se traducirán en una mayor protección frente a la COVID-19. En cualquier caso, las vacunas adaptadas solo han sido aprobadas para su uso como dosis

de refuerzo en personas que completaron al menos una serie primaria, sin importar qué vacunas se usaron para la serie primaria; por ello, el uso de estas vacunas adaptadas debe limitarse por el momento a la vacunación de refuerzo. El ECDC y la EMA indican que las vacunas monovalentes actuales que incorporan la cepa original siguen siendo útiles para una sensibilización eficaz y para inducir una protección inicial suficiente en individuos sin tratamiento previo.

Vacuna COVID-19 inactivada (Vacuna COVID-19 Valneva®) Valneva

Indicación: Inmunización activa para prevenir la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2, en personas de entre 18 y 50 años.

Tipo: Autorizado el 24-6-2022. Medicamento biológico; vacuna purificada, adsorbida en hidróxido de aluminio y adyuvada con CpG 1018 (citosina-fosfato-guanina), conteniendo virus SARS-CoV-2 completo inactivado (cepa de Wuhan hCoV-19/Italy/INMI1-isl/2020), cultivado en células Vero.

Mecanismo: Genera respuestas tanto de anticuerpos neutralizantes de SARSCoV-2 como de inmunidad celular (Th1) contra la espícula (S) y otras proteínas presentes en la superficie, que pueden contribuir a la protección frente a la COVID-19.

Eficacia clínica: Estudio de fase 3 aún en curso, aleatorizado y comparativo con tratamiento activo y con enmascaramiento para el observador, en comparación con la vacuna frente a COVID-19 ChAdOx1-S recombinante (Vaxzevria®) en participantes adultos sanos (o con condiciones médicas estables) de cualquier género y de 18 años o más. Se aleatorizaron 2.975 (≥ 30 años) para recibir la pauta de vacunación de dos dosis de la VLA2001 ($n = 1.978$) o de ChAdOx1-S recombinante ($n = 997$), cada una con 28 días de separación. Además, 1.042 participantes de entre 18 y 29 años se incluyeron en un grupo de tratamiento sin aleatorizar para recibir VLA2001 sin enmascaramiento. Tanto la inmunogenicidad como la seguridad se evaluarán hasta el mes 12 tras la vacunación con la primera dosis. Las variables coprimarias de la inmunogenicidad se definieron como la superioridad de la media geométrica de los títulos (GMT) de la población de inmunogenicidad (804 vs. 577), así como la no inferioridad del índice de seroconversión (definida como el aumento en una proporción de 4 respecto del valor basal) de los anticuerpos neutralizantes específicos de SARS-CoV-2, dos semanas después de la administración de la segunda dosis (es decir, el día 43) en adultos de 30 años o más (población por protocolo): 97,4 vs. 98,9%.

Eventos adversos: Los más comunes son dolor a la palpación en el lugar de inyección (76%), fatiga (57%), dolor en el lugar



de inyección (53%), cefalea (41%), mialgia (44%) y náuseas/vómitos (15%). La mayoría de las reacciones adversas fueron de intensidad leve y se resolvieron en un plazo de 2 días después de la vacunación.

Vacuna Hepatitis B recombinante (Prehevbri®) VBI Vaccines

Indicación: Inmunización activa frente a la infección causada por todos los subtipos conocidos del virus de la hepatitis B en adultos.

Tipo: Autorizado el 18-5-2022. Medicamento biológico; vacuna con la composición antigénica completa de los antígenos de superficie del virus de la hepatitis B (HBs), incluyendo el antígeno de superficie pequeño (S, 83%), el mediano (pre-S2, 6%) y el grande (pre-S1, 11%), obtenidos mediante tecnología de ADN recombinante, adsorbidos en hidróxido de aluminio y formulados en una estructura de partículas pseudovíricas.

Mecanismo: Confiere inmunidad frente a todos los subtipos conocidos de infección por el virus de la hepatitis B mediante la estimulación de una respuesta inmunitaria específica, determinada mediante la inducción de anticuerpos anti-HBs con un título ≥ 10 mUI/ml.

Eficacia clínica: Dos ensayos clínicos de fase 3, multicéntricos, aleatorizados, controlados y con doble enmascaramiento en adultos, en comparación con una vacuna autorizada frente a la hepatitis B (Engerix-B). Ambas vacunas se administraron en una pauta de 3 dosis a los 0, 1 y 6 meses. En el primer estudio ($n = 1.441$ adultos), la variable primaria fue la tasa de seroprotección, definida como el porcentaje de pacientes con unos títulos de anticuerpos anti-HBs ≥ 10 mUI/ml el día 196 del estudio: en sujetos ≥ 18 años en el grupo de PreHevbri fue no-inferior a la del grupo de Engerix-B el día 196 del estudio (91,4% vs. 76,5%) y en sujetos ≥ 45 años fue superior a la del grupo de Engerix-B (89,4% vs. 73,1 %). En el segundo estudio ($n = 2.345$), el criterio de valoración principal del estudio fue comparar 3 lotes de PreHevbri y Engerix-B en cuanto a la respuesta inmunitaria evaluada midiendo la media geométrica de la concentración de anticuerpos anti-Hbs: 5.443 (Prehevbri) vs. 1.526 (Engerix-B) al día 196 y 2.093 vs. 473 al día 336.

Eventos adversos: Los más comunes son dolor en el lugar de la inyección (72%), sensibilidad en el lugar de la inyección (71%) y prurito/picor local (12%). Las reacciones sistémicas solicitadas más frecuentes fueron mialgia (42%), fatiga (38%) y cefalea (36%).

Vacuna Neumococo polisacárida conjugada 20-valente (Apexxnar®) Pfizer

Indicación: Inmunización activa para la prevención de la enfermedad invasiva y la neumonía causadas por *Streptococcus pneumoniae* en individuos de 18 años de edad y mayores.

Tipo: Autorizado el 14-2-2022. Medicamento biológico; vacuna constituida por 20 polisacáridos capsulares neumocócicos diferentes, todos adsorbidos en fosfato de aluminio y conjugados con la proteína transportadora CRM197, la cual modifica la respuesta inmune al polisacárido, pasando de una respuesta independiente a una dependiente de linfocitos T.

Mecanismo: La respuesta dependiente de linfocitos T conduce tanto a una producción de anticuerpos aumentada como a la generación de linfocitos B de memoria, lo que permite una respuesta de refuerzo en la reexposición a la bacteria. La vacunación induce la producción de anticuerpos séricos y la memoria inmunológica contra los serotipos contenidos en la vacuna.

Eficacia clínica: Tres estudios clínicos de fase 3 en Estados Unidos y Suecia, en adultos que nunca habían recibido una vacuna antineumocócica o que habían sido vacunados previamente con Prevenar 13, PPSV23 o ambas. El estudio clínico pivotal fue aleatorizado, controlado con tratamiento activo, doble ciego y de no inferioridad, en sujetos de 18 años y mayores que previamente no habían recibido una vacuna antineumocócica ($n = 3,889$). Se midieron los títulos medios geométricos de la actividad opsonofagocítica específicos de serotipo antes de la primera vacunación y 1 mes después de cada vacunación. Las respuestas inmunes a todos los 13 serotipos comunes inducidas por Apexxnar fueron no-inferiores a las inducidas por Prevenar 13 a los mismos serotipos un mes después de la vacunación. Las respuestas inmunes a 6 de los 7 serotipos adicionales inducidas por Apexxnar fueron no-inferiores a las inducidas por PPSV23 a los mismos serotipos 1 mes después de la vacunación, pero la respuesta al serotipo 8 no cumplió con el criterio estadístico de no inferioridad definido.

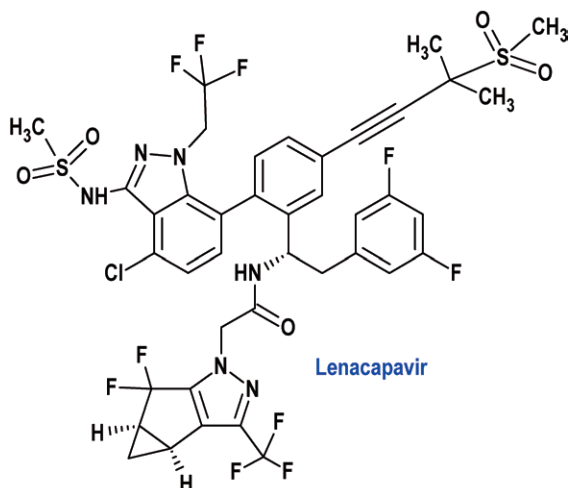
Eventos adversos: Los más comunes ($> 10\%$) son cefalea, dolor articular y/o muscular, dolor/sensibilidad en el lugar de la inyección.

Lenacapavir (Sunlenca®) Gilead

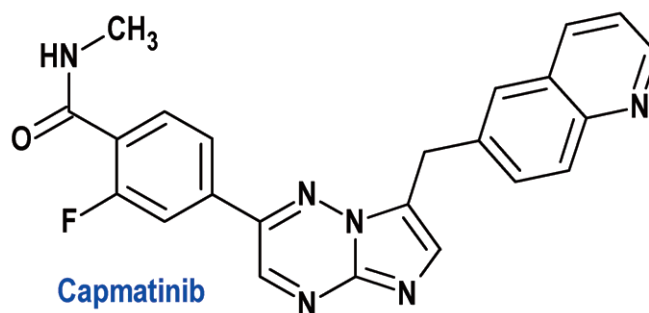
Indicación: En combinación con otro(s) fármaco(s) anti-retroviral(es), está indicado para el tratamiento de adultos con infección por el VIH-1 multiresistente a fármacos para los que, de otro modo, no es posible preparar una pauta de tratamiento antiviral supresor.

Tipo: Autorizado el 17-8-2022.

Mecanismo: Inhibidor selectivo multifase de la función de



Lenacapavir



Capmatinib

la cápside del VIH-1 que se une directamente a la interfaz entre las subunidades proteicas de la cápside (CA). Lenacapavir inhibe la replicación del VIH-1 al interferir en múltiples pasos fundamentales del ciclo de vida vírico, incluida la captación nuclear de ADN proviral del VIH-1 mediada por la cápside (al bloquear la unión de proteínas de importación nuclear a la cápside), el ensamblaje y la liberación del virus (al interferir en la función de Gag/Gag-Pol, reduciendo la producción de subunidades CA), y la formación del núcleo de la cápside (al alterar la velocidad de asociación de las subunidades de la cápside, lo que resulta en cápsides malformadas). Lenacapavir mostró actividad antiviral en cultivos celulares frente a todos los grupos del VIH-1 (M, N, O), incluidos los subtipos A, A1, AE, AG, B, BF, C, D, E, F, G, H; fue entre 15 y 25 veces menos activo frente a aislados del VIH-2 en comparación con el VIH-1.

Eficacia clínica: Ensayo multicéntrico, parcialmente aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, de 52 (un año) semanas de duración, que incluyó a 72 pacientes altamente tratados con tratamientos antirretrovirales previos con VIH-1 resistente a múltiples clases de fármacos. La variable principal de eficacia fue el porcentaje de pacientes que alcanzaron una reducción $\geq 0,5$ log₁₀ copias/ml desde el momento basal en el ARN del VIH-1 al final del período de monoterapia funcional: 87,5% vs. 16,7% (placebo).

Eventos adversos: Los más comunes son reacciones en la zona de inyección (63 %) y náuseas (4 %).

(L) Agentes antineoplásicos e inmunomoduladores

Capmatinib (Tabrecta®) Novartis

Indicación: Como monoterapia para el tratamiento de pacientes adultos con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) avanzado que albergan alteraciones que conducen a la omisión del exón 14 del gen del factor de transición epitelial mesenquimatoso (METex14), que requieren terapia sistémica después

de un tratamiento previo con inmunoterapia y/o quimioterapia basada en platino.

Tipo: Autorizado el 20-6-2022; autorizado previamente en Estados Unidos (6-5-2020), como medicamento huérfano.

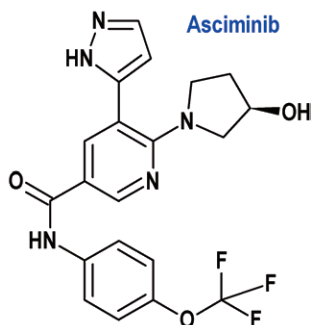
Mecanismo: Capmatinib es un inhibidor de la cinasa que se dirige al factor de transición epitelial mesenquimatoso (MET), incluida la variante mutante producida por la omisión del exón 14 (METex14). La omisión del exón 14 de MET da como resultado una proteína a la que le falta un dominio regulador que reduce su regulación negativa, lo que conduce a un aumento de la señalización de MET. Capmatinib inhibe la fosforilación de MET provocada por la unión del factor de crecimiento de hepatocitos o por la amplificación de MET, así como la fosforilación mediada por MET de proteínas de señalización y la proliferación y supervivencia de células cancerosas dependientes de MET.

Eficacia clínica: Estudio de fase 2 multicéntrico, no aleatorizado, abierto, multicohorte en 373 pacientes, que continuaron el tratamiento hasta progresión de la enfermedad documentada, falta de tolerancia al tratamiento o ausencia de beneficio clínico. La variable principal de eficacia fue la tasa de respuesta global en pacientes naïve (68%; 4% completa) y previamente tratados (41%; 0% completa). La mediana de la duración de la respuesta fue de 16,6 (naïve) y 9,7 meses (pretratados) y el porcentaje de pacientes con duración ≥ 12 meses fue del 47% y 32%, respectivamente.

Eventos adversos: Los más comunes son edema periférico (68%), náuseas (44%), fatiga (34%), aumento de creatinina en sangre (34%), vómitos (25%), disnea (23%), disminución del apetito (21%) y dolor de espalda (21%). Las más frecuentes de grado 3 o 4 son edema periférico (14%), aumento de lipasa (9,4%), aumento de ALT (8,1%), fatiga (8,1%), disnea (6,9%) y aumento de amilasa (5,6%). Las reacciones adversas graves que se presentaron en $>2\%$ de pacientes incluyeron disnea (5,6%), EPI/neumonitis (5,0%), celulitis (3,1%) y edema periférico (2,5%). Se notificaron reducciones de dosis en 31% e interrupciones permanentes del tratamiento en 12%.



Asciminib (Scemblix®) Novartis



Indicación: Tratamiento de pacientes adultos con leucemia mieloide crónica en fase crónica con cromosoma Filadelfia positivo (LMC-FC Ph+) previamente tratado con dos o más inhibidores de la tirosina cinasa

Tipo: Autorizado el 25-8-2022, como medicamento huérfano; autorizado previamente en Estados Unidos (29-10-2021).

Mecanismo: Es un inhibidor de la tirosina cinasa ABL/BCR::ABL1. Asciminib inhibe la actividad cinasa ABL1 de la proteína de fusión BCR::ABL1 al dirigirse específicamente al bolsillo de miristoilo de ABL. El gen BCR está normalmente en el cromosoma número 22, mientras que el gen ABL lo está en el número 9; la mutación BCR-ABL ocurre cuando partes de los cromosomas 9 y 22 se desprenden y cambian de lugar, de tal manera que la parte del cromosoma 9 que se desprende incluye una parte del gen ABL. Cuando esta parte se traslada al cromosoma 22, parte del gen ABL se une al gen BCR, formando el gen BCR-ABL. Este cromosoma 22 mutado es conocido como "cromosoma Filadelfia" y la mutación no se hereda de los padres, sino que se trata de una mutación somática producida a lo largo de la vida.

Eficacia clínica: Estudio fase 3 multicéntrico, aleatorizado, abierto y controlado con bosutinib, que incluyó a 233 pacientes que continuaron el tratamiento hasta que se produjo una toxicidad inaceptable o el fracaso del tratamiento (la mediana de duración del tratamiento aleatorizado fue 103 semanas). La variable principal de eficacia fue la tasa de respuesta molecular mayor (relación BCR::ABL1 en la escala internacional $\leq 0,1\%$) a las 24 semanas: 25,5% (asciminib) vs. 13,2% (bosutinib).

Eventos adversos: Los más comunes (incidencia $\geq 20\%$) son dolor musculoesquelético (37%), infecciones respiratorias de vías altas (28%), trombocitopenia (28%), fatiga (27%), dolor de cabeza (24%), artralgia (22%), elevación de las enzimas pancreáticas (21%), dolor abdominal (21%), diarrea (21%) y náuseas (20%). Las reacciones adversas más frecuentes de grado ≥ 3 (incidencia $\geq 5\%$) fueron trombocitopenia (19%), neutropenia (16%), elevación de las enzimas pancreáticas (12%), hipertensión (8,7%) y anemia (5,3%). Las reacciones adversas graves sucedieron en el 12,4% y las más frecuentes (incidencia $\geq 1\%$) fueron derrame pleural (2,5%), infecciones respiratorias de vías bajas (2,2%), trom-

bocitopenia (1,7%), pirexia (1,4%), pancreatitis (1,1%), dolor torácico no-cardíaco (1,1%) y vómitos (1,1%).

Teclistamab (Tecvayli®) Janssen Cilag

Indicación: Monoterapia para el tratamiento de pacientes adultos con mieloma múltiple en recaída y refractario, que han recibido al menos tres tratamientos previos, incluidos un agente inmunomodulador, un inhibidor del proteasoma y un anticuerpo anti-CD38 y han presentado progresión de la enfermedad al último tratamiento.

Tipo: Autorizado condicionalmente el 23-8-2022, como medicamento huérfano. Medicamento biológico, constituido por un anticuerpo biespecífico humanizado de inmunoglobulina G4-prolina, alanina, alanina (IgG4-PAA) dirigido contra los receptores del antígeno de maduración de los linfocitos B (BCMA) y CD3, producido en una línea celular de mamífero (ovario de hámster chino) mediante tecnología de ADN recombinante.

Mecanismo: Teclistamab es un anticuerpo biespecífico IgG4-PAA de tamaño completo que se dirige al receptor de CD3 expresado en la superficie de los linfocitos T y al antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), que se expresa en la superficie de las células malignas de mieloma múltiple del linaje B, así como en los linfocitos B en fase avanzada y en las células plasmáticas. Gracias a sus puntos de unión dobles, teclistamab es capaz de atraer a los linfocitos T CD3+ a la proximidad de las células BCMA+, lo que provoca la activación de los linfocitos T y la subsiguiente lisis y muerte de las células BCMA+, que está mediada por la perforina secretada y varias granzimas almacenadas en las vesículas secretoras de los linfocitos T citotóxicos. Este efecto se produce sin tener en cuenta la especificidad de los receptores de los linfocitos T o sin dependencia de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (CPH) de clase 1 en la superficie de las células que presentan el antígeno. Durante el primer mes de tratamiento, se observó la activación de los linfocitos T, la redistribución de los linfocitos T, la reducción de los linfocitos B y la inducción de las citocinas séricas.

Eficacia clínica: Ensayo de fase 1/2, de un solo grupo, abierto y multicéntrico, de XX semanas de duración, que incluyó a 165 pacientes con mieloma múltiple en recaída o refractario. La variable principal de eficacia fue la tasa de respuesta global, según lo determinado por la evaluación del Comité de Revisión Independiente utilizando los criterios del International Myeloma Working Group (IMWG) de 2016: respuesta global: 63%; respuesta completa: 6,7%; respuesta parcial 4,2%- La duración (mediana) de la respuesta fue de 18,4 meses.

Eventos adversos: Los más comunes son hipogammaglobulinemia (75%), síndrome de liberación de citocinas (72%), neu-



tropenia (71%), anemia (55%), dolor musculoesquelético (52%), fatiga (41%), trombocitopenia (40%), reacción en la zona de inyección (38%), infección de las vías respiratorias altas (37%), linfopenia (35%), diarrea (28%), neumonía (28%), náuseas (27%), fiebre (27%), cefalea (24%), tos (24%), estreñimiento (21%) y dolor (21%). Se notificaron reacciones adversas graves en el 65% de los pacientes, incluyendo neumonía (16%), COVID-19 (15%), síndrome de liberación de citocinas (8%), sepsis (7%), fiebre (5%), dolor musculoesquelético (5%), lesión renal aguda (4,8%), diarrea (3,0%), celulitis (2,4%), hipoxia (2,4%), neutropenia febril (2,4%) y encefalopatía (2,4%).

Edgartigimod Alfa (Vyvgart®) Argenx

Indicación: Complemento de la terapia estándar para el tratamiento de pacientes adultos con miastenia gravis generalizada (MGG) con anticuerpos positivos frente a receptores de acetilcolina (AChR).

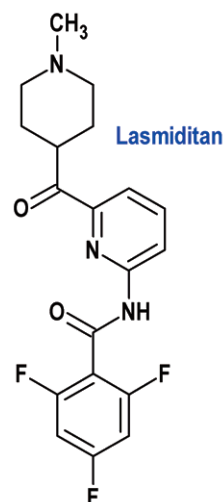
Tipo: Autorizado el 18-8-2022, como medicamento huérfano; autorizado previamente en Estados Unidos (17-12-2021). Medicamento biológico, constituido por un fragmento cristalizable (Fc) derivado de la inmunoglobulina humana recombinante G1 (IgG1). **Mecanismo:** Es un fragmento de anticuerpo humano IgG1 diseñado para aumentar la afinidad con el receptor neonatal para el Fc (FcRn). Edgartigimod alfa se une al FcRn, lo que provoca una reducción de los niveles de IgG circulantes, incluidos los autoanticuerpos IgG patogénicos, pero sin afectar a los niveles de otras inmunoglobulinas (IgA, IgD, IgE o IgM), ni a los de la albúmina. Los autoanticuerpos IgG son la causa subyacente de la patogénesis de la miastenia gravis, ya que deterioran la transmisión neuromuscular al unirse a los receptores de la acetilcolina (AChR), al receptor de tirosina cinasa muscular (MuSK) o a la proteína 4 asociada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP4).

Eficacia clínica: Ensayo multicéntrico, aleatorizado, con enmascaramiento doble y controlado con placebo de 26 semanas de duración, que incluyó a 167 pacientes. La eficacia clínica se midió mediante la escala de actividades de la vida diaria específica de la miastenia gravis (MG-AVD), con una puntuación total que oscila entre 0 y 24, siendo las puntuaciones más altas las que indican un mayor deterioro; en este estudio, se consideró que los pacientes con MGG respondían al tratamiento si había una reducción de ≥ 2 puntos en la puntuación total de MG-AVD en comparación con el estado inicial. La variable primaria de eficacia fue la comparación del porcentaje de pacientes respondedores durante el primer ciclo de tratamiento: 68% (edgartigimod alfa) vs. 30% (placebo).

Eventos adversos: Los más comunes son infecciones respiratorias de vías altas (10,7%) e infecciones urinarias (9,5%).

(N) Sistema nervioso

Lasmiditan (Rayvow®) Lilly



Indicación: Tratamiento agudo de la fase de cefalea de los ataques de migraña, con o sin aura en adultos.

Tipo: Autorizado el 17-8-2022; autorizado previamente en Estados Unidos (11-10-2019).

Mecanismo: Agonista del receptor de 5-hidroxitriptamina 1F (5-HT_{1F}), de alta afinidad, que actúa a nivel central. Se desconoce el mecanismo de acción preciso, aunque los efectos terapéuticos de lasmiditán en el tratamiento de la migraña presumiblemente implican efectos agonistas en el receptor 5-HT_{1F}, una disminución de la liberación de neuropéptidos y una inhibición de las vías del dolor, incluido el nervio trigémino. Lasmiditán mostró una selectividad > 440 veces mayor para el receptor 5HT_{1F} frente a los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{1D}. No tiene efecto vasoconstrictor en las arterias coronarias humanas ex vivo, arterias mamarias internas humanas ex vivo o arterias meníngeas medias humanas ex vivo, probablemente debido a su baja afinidad por el receptor 5-HT_{1B}, que posee efecto vasoconstrictor.

Eficacia clínica: Tres ensayos de fase 3, aleatorizados, controlados con placebo y doble ciego, que incluyeron a 5910 pacientes adultos, con 3-8 ataques de migraña al mes y migraña al menos moderadamente incapacitante. Las variables principales de eficacia fueron la proporción de pacientes con ausencia de dolor y la proporción de pacientes sin el síntoma más molesto (fotofobia, mayoritariamente), en comparación con el placebo, 2 horas después del tratamiento: 28-39% vs. 15-21% (placebo) y 41-49% vs. 30-34% (placebo), respectivamente.

Eventos adversos: Los más comunes son mareos (20%), somnolencia (7,8%), fatiga (7,7%), parestesia (6,8%), náuseas (4,9%), vértigo (2,6%), hipoestesia (2,5%) y debilidad muscular (2,3%).

2. FOOD & DRUG ADMINISTRATION (FDA)

(A) Tracto alimentario y metabolismo

Vutrisiran (Amvuttra®) Alnylam

Indicación: Tratamiento de la polineuropatía de la amiloidosis hereditaria mediada por transtiretina en adultos.

Tipo: Autorizado el 13-6-2022, como medicamento huérfano; no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por un pequeño ácido ribonucleico de interferencia (ARNip) bicatenario químicamente modificado y dirigido al ARN mensajero (ARNm) de transtiretina (TTR), unido covalentemente a un ligando que contiene tres residuos de N-acetilgalactosamina (GalNAc) para facilitar la entrega del ARNip a los hepatocitos.

Mecanismo: El conjugado de ARNip-GalNAc de doble cadena causa la degradación del ARNm de la TTR tanto mutante como de tipo salvaje, a través de la interferencia de ARN, lo que da como resultado una reducción de la transtiretina sérica y de sus depósitos en los tejidos.

Eficacia clínica: Ensayo aleatorizado, abierto y controlado con placebo de 9 meses de duración, que incluyó a 199 pacientes. La variable principal de eficacia fue el cambio desde el inicio hasta el mes 9 en la puntuación modificada de deterioro de la neuropatía +7 (mNIS+7): -2,2 vs. +14,8.

Eventos adversos: Los más comunes son artralgia (11%), disnea (7%) y reducción de los niveles de vitamina A (7%).

(L) Agentes antineoplásicos e inmunomoduladores

Spesolimab (Spevigo®) Boehringer Ingelheim

Indicación: Tratamiento de los brotes de psoriasis pustulosa generalizada en adultos.

Tipo: Autorizado el 1-9-2022, como medicamento huérfano; no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por un anticuerpo IgG1 monoclonal humanizado contra el IL-36R humano, producido en células de ovario de hámster chino mediante tecnología de ADN recombinante.

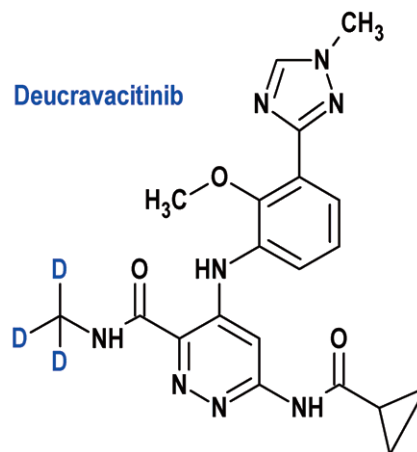
Mecanismo: Inhibe la señalización de la interleucina-36 (IL-36) al unirse específicamente al receptor IL-36R. La unión de spesolimab a IL-36R evita la activación posterior de IL-36R por ligandos afines (IL-36 α , β y γ) y la activación posterior de vías proinflamatorias y profibróticas.

Eficacia clínica: Ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, que incluyó a 53 pacientes con al menos una puntuación de 3 (moderado) en la escala GPPPGA (Generalized

Pustular Psoriasis Physician Global Assessment), una supuntuación de pústulas de al menos 2 (leve) y, al menos, el 5% del área de la superficie corporal cubierta con eritema y presencia de pústulas. La variable principal de eficacia fue la proporción de sujetos con una subpuntuación de pústulas de GPPPGA de 0 (que indica que no hay pústulas visibles) en la semana 1 después del tratamiento: 54% vs 6% (placebo).

Eventos adversos: Los más comunes (>5%) son astenia, fatiga, cefalea, náusea y vómitos (9%); prurito, hematoma y sensación de quemazón en el punto de infusión IV e infección del tracto urinario (6%).

Deucravacitinib (Sotyktu®) Bristol Myers Squibb



Indicación: Tratamiento de adultos con psoriasis en placas de moderada a grave que son candidatos para terapia sistémica o fototerapia.

Tipo: Autorizado el 9-9-2022; no autorizado aún en la Unión Europea. La molécula presenta la peculiaridad de contener tres átomos de deuterio (D), que sustituyen a otros tantos átomos de hidrógeno (H). El deuterio (hidrógeno-2) es un isótopo estable del hidrógeno (hidrógeno-1) que representa el 0,015% del total de átomos de hidrógeno existentes; su núcleo atómico está formado por un protón y un neutrón, mientras que el del hidrógeno solo contiene un protón.

Mecanismo: Inhibidor selectivo de la tirosina cinasa 2 (TYK2), un miembro de la familia de cinasas Janus (JAK). Deucravacitinib se une al dominio regulador de TYK2, estabilizando una interacción inhibitoria entre los dominios regulador y catalítico de la enzima, dando como resultado la inhibición alostérica de la activación mediada por el receptor de TYK2 y de la activación de los transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT). Las cinasas JAK, incluida la TYK2, funcionan como pares de homodímeros o heterodímeros en las vías JAK-STAT, donde TYK2 se empareja



con JAK1 para mediar en múltiples vías de citocinas y con JAK2 para transmitir señales. El deucravacitinib redujo la expresión génica asociada a la psoriasis en la piel psoriásica de manera dependiente de la dosis, incluidas reducciones en los genes regulados por la vía de la IL-23 y la vía del IFN tipo I.

Eficacia clínica: Dos estudios de fase 3 de 52 semanas de duración, multinacionales, multicéntricos, aleatorizados, doble ciego, controlados con placebo y con un comparador activo (apremilast), incluyendo a un total de 1.684 pacientes con psoriasis en placas de moderada a grave, candidatos para fototerapia o terapia sistémica, con una afectación del área de superficie corporal $\geq 10\%$, una puntuación del índice de gravedad y área de psoriasis (PASI) ≥ 12 y una evaluación global del médico (sPGA) estática ≥ 3 (moderada o grave). Las variables principales de eficacia fueron el porcentaje de pacientes que alcanzaron el Índice de gravedad y área de psoriasis de 75 (PASI 75; reducción de al menos un 75% en la puntuación PASI basal) y el porcentaje de pacientes que alcanzaron una puntuación estática de 0 o 1 en la Evaluación global del médico (sPGA 0/1; claro o casi claro) en la semana 16 frente a placebo: (PASI 75) 53-58% (deucravacitinib) vs. 35-40% (apremilast) vs. 9-13% (placebo); (sPGA 0/1) 50-54% (deucravacitinib) vs. 32-34% (apremilast) vs. 7-9% (placebo). Los criterios de valoración secundarios clave incluyeron el porcentaje de pacientes que lograron PASI 75, PASI 90 y sPGA 0/1 en comparación con apremilast en semana 24: (PASI 75) 58-69% (deucravacitinib) vs. 38% (apremilast); (PASI 90) 32-42% (deucravacitinib) vs. 20-22% (apremilast); (sPGA 0/1) 49-59% (deucravacitinib) vs. 30-31% (apremilast).

Eventos adversos: Los más comunes son infecciones de las vías respiratorias superiores (19%), aumento de la creatina fosfoquinasa en sangre (2,7%), herpes simple (2,0%), úlceras bucales (1,9%), foliculitis (1,7%) y acné (1,4%). El 2,4 % de los pacientes con deucravacitinib, el 3,8 % con placebo y el 5,2 % con apremilast experimentaron reacciones adversas que llevaron a la suspensión del tratamiento.

Eflapegrastim (Rolontis®) Spectrum

Indicación: Disminuir la incidencia de infección, manifestada por neutropenia febril, en pacientes adultos con neoplasias malignas no mieloides que reciben fármacos anticancerosos mielosupresores asociados con una incidencia clínicamente significativa de neutropenia febril.

Tipo: Autorizado el 9-9-2022, no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por un factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) producido por acoplamiento covalente de un análogo de G-CSF humano y un fragmento Fc de inmunoglobulina humana G4 (IgG4), ambos de

origen recombinante, a través de un único enlazador de polietilenglicol de 3,4 kDa. El dominio G-CSF recombinante en eflapegrastim es una variante del G-CSF humano con dos sustituciones de serina en las posiciones 17 y 65, y sin metionina N-terminal adicional.

Mecanismo: Es un factor de crecimiento de granulocitos humanos recombinante que se une a los receptores de G-CSF en las células progenitoras mieloides y los neutrófilos, desencadenando vías de señalización que controlan la diferenciación, proliferación, migración y supervivencia celular.

Eficacia clínica: Dos estudios de no inferioridad con control activo (pegfilgrastim), abiertos, aleatorizados y 1:1 de diseño similar, que incluyeron un total de 643 pacientes con cáncer de mama en etapa inicial, tratadas con docetaxel y ciclofosfamida. La variable principal de eficacia fue la duración (mediana) de la neutropenia en las pacientes tratadas: 0,20-0,31 días (eflapegrastim) vs. 0,35-0,39 días (pegfilgrastim).

Eventos adversos: Los más comunes ($>20\%$) son fatiga (58%), náusea (52%), diarrea (40%), dolor óseo (38%), cefalea (29%), pirexia (28%), anemia (25%), erupción cutánea (25%), mialgia (22%), artralgia (21%) y dolor de espalda (20%). El 4 % de los pacientes interrumpieron el tratamiento debido a eventos adversos.

(M) Sistema músculo-esquelético

Toxina Daxibotulínica A (Daxify®) Revance

Indicación: Mejora temporal en la apariencia de las líneas (arrugas) glabellares de moderadas a severas asociadas con la actividad del músculo corrugador y/o prócer en pacientes adultos.

Tipo: Autorizado el 7-9-2022; no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por toxina botulínica purificada procedente de cultivos de *Clostridium botulinum* tipo A. La toxina daxibotulínica A está formulada conjuntamente con un péptido excipiente estabilizador (RTP004), que mejora la unión de la neurotoxina a las superficies neuronales, lo que puede aumentar la probabilidad de internalización de la neurotoxina.

Mecanismo: Bloquea la transmisión colinérgica en la unión neuromuscular al inhibir la liberación de acetilcolina. Cuando se inyecta en el músculo esquelético, la toxina se interna en la terminal nerviosa, trasladándose al citosol neuronal donde escinde SNAP25, una proteína necesaria para el acoplamiento de la membrana de la vesícula sináptica y la posterior liberación de acetilcolina, lo que produce una disminución de la función muscular dependiente de la dosis. La recuperación de la actividad es gradual y resulta de la degradación de la cadena ligera de la neurotoxina en las neuronas con una contribución de la formación de brotes axo-



nales. La reinervación muscular conduce a una reversión lenta de los efectos farmacológicos de la toxina.

Eficacia clínica: Dos ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego, multicéntricos y controlados con placebo, que incluyó a 609 sujetos adultos con líneas glabellares de al menos una gravedad moderada en el ceño fruncido máximo. La variable principal de eficacia fue la tasa de sujetos con una puntuación de 0 o 1 (ninguna o leve) y una mejora de al menos 2 puntos desde el inicio para las evaluaciones del investigador y del sujeto en la semana 4, valorados por los investigadores y los sujetos utilizando una escala de 4 puntos (0=ninguno; 1=leve; 2=moderado; 3=grave) en comparación con el placebo: 92-86% vs. 1-2% (investigadores) y 76-77% vs. 0% (sujetos).

Eventos adversos: Los más comunes son reacciones en el punto de inyección (dolor, eritema, edema; 9%), cefalea (6%), ptosis palpebral (caída del párpado superior; 2%) y paresia facial (1%).



CONGENITAL NEURONAL EALTHY SYMPTOMATIC CATALAN AS