

UNIVERSIDAD DE GRANADA



**DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA
MEMORIA DE TESIS DOCTORAL**

**Análisis de la Repercusión de la Ingesta
Dietética durante la Lactancia sobre la
Composición de Vitaminas A y E y Ácidos
Grasos de la Leche Humana**

Autor

JOSÉ LUIS GÓMEZ LLORENTE

Granada, 15 de Octubre de 2008

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: José Luis Gmez Llorente
D.L.: GR. 2893-2009
ISBN: 978-84-691-8337-3

A mi hija y mi Mujer

A mis padres

A mis hermanas

*Análisis de la Repercusión de la Ingesta Dietética durante la
Lactancia sobre la Composición de Vitaminas A y E y Ácidos
Grasos de la Leche Humana*

Memoria que presenta el
Licenciado D. José Luis Gómez
Llorente para aspirar al grado de
Doctor en Medicina y Cirugía.

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada bajo la dirección de:

Profa. Cristina Campoy Folgoso

Prof. Rogelio Bayés García Prof. José Antonio Gómez Capilla

D. José Luis Gómez Llorente aspirante al
grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Dña. Cristina Campoy Folgoso, Profesora Titular de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

D. Rogelio Bayés García, Profesor Titular de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

D. José Antonio Gómez Capilla, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

CERTIFICAN: Que el trabajo de investigación que se expone en la Memoria de Tesis Doctoral: "**Análisis de la Repercusión de la Ingesta Dietética Durante la Lactancia sobre la Composición de Vitaminas A y E y Ácidos Grasos de la Leche Humana**" ha sido realizado bajo nuestra dirección por D. José Luis Gómez Llorente, en el Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía y juzgada por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente con fecha 15 de Octubre de dos mil ocho.

Profa. Cristina Campoy Folgoso

Prof. Rogelio Bayés García

Prof. José Antonio Gómez Capilla

INDICE GENERAL



AGRADECIMIENTOS

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

RESUMEN

INDICE DE LA TESIS

INTRODUCCIÓN

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA

AGRADECIMIENTOS



AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a las personas que han colaborado conmigo haciendo posible la realización de esta tesis:

A mis Directores sin cuya ayuda no hubiese sido posible llevar a cabo este trabajo.

A la profesora D^a Carmen López Sabater por su inestimable ayuda en la determinación de los ácidos grasos de la leche humana.

Al personal de enfermería del área neonatal del Hospital Universitario San Cecilio por su contribución en la obtención de las muestras.

De forma especial a las madres que se prestaron con amabilidad colaborando con este estudio.

A mi padre parte fundamental que ha posibilitado que se pueda realizar este trabajo.

A mi madre por su perseverancia, sin la cual no hubiese sido posible la terminación de este trabajo.

A mis hermanas M^a Amelia y Carolina por su ayuda y apoyo para la elaboración de este estudio.

A mi mujer por su paciencia y por las largas mañanas de mecanografía.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS



ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS



A

AA: Ácido Araquidónico

Adl: Adolescentes

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

Adul: Adultos

AG: Ácidos Grasos

AGS: ácidos grasos saturados

AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

AGE: Ácidos Grasos Esenciales

AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados

AGPI-CL: Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga

ALA: Ácido Alfa-Linolénico

RBP: (Retinol Binding Protein): Proteína Transportadora de Retinol libre.

Apo E: Apolipoproteína E

ARAT: Acil CoA-Retinol Aciltransferasa

ATP: adenosin trifosfato

C

CA: California

CEE: Comunidad Económica Europea

CG/DCE: Cromatografía de Gases con Detector de Captura de Electrones

CG/EM: Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas

Cho: colesterol

CoA: coenzima A.

CRABP (Cytoplasmic Retinoic Acid Binding Protein): Proteína Citoplásmica transportadora de Ácido Retinoico

CRBP (Cytoplasmic Retinol Binding Protein): Proteína

Citoplasmática Transportadora de Retinol

D

dl: decilitro

DHA: Ácido Docosahexaenoico

DNA: Ácido Desoxirribonucleico.

DRV panel: Panel on Dietary Reference Values

E

EBP: Proteínas Transportadoras del Epidídimo

EDCs: Endocrine Disrupting Chemicals

EPA: Ácido eicosapentanoico

ERG: electrorretinografía

ESPGHAN

F

Fig: figura

FADH: dinucleótido de adenina flavina (forma reducida)

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FDA: Food and Drugs Administration

G

g: gramos

G3P: glycerol 3 fosfato

GSH: glutation reducido

H

HDL: Lipoproteínas de Alta Densidad

HCH: Hexaclorociclohexano

H.C: hidratos de carbono

HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Resolución

I

¹²⁵I-RBP: Proteína Transportadora de Retinol marcada con yodo
125

(RDA) IDA: Ingestión Diaria máxima Admisible

IRBP: Proteína Transportadora de Retinol Inter-fotorreceptor

K

Kcal: kilocalorías

L

L: litro

LA: ácido linoleico

L.D.:límite de detección

LDL (Low Density Lipoprotein): Lipoproteína de baja densidad

LRAT: Lecitin-Retinol Aciltransferasa

M

MDI

ml: mililitros

min: minuto

mRNA: Ácido Ribonucleico mensajero

N

NNP: nitrógeno no proteico

NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido (forma reducida)

O

OMS: Organización Mundial para la Salud

P

p: nivel de significancia

P.e: por ejemplo

PEV: potenciales evocados visuales

PDI

PGI₂: Prostaglandina I₂

PL: fosfolípidos

R

RAR: receptor nuclear del ácido retinoico

RXR: receptor nuclear X del ácido retinoico

RARE : Retinoic Acid Responsive Elements

RBP (Retinol Binding Protein): Proteína Transportadora de Retinol

R.D.: Real Decreto

RDA: Dosis Diaria Recomendada

RE: Equivalentes de Retinol

RNA: Ácido ribonucleico

RNAT: recién nacido a término

RNPT: recién nacido pretérmino

RPE: Epitelio Pigmentado de la Retina

rpm: revoluciones por minuto

S

s: segundos

SCF: Scientific Committee for Food

SEM: Error Estándar de la Media

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

T

TG: triglicéridos

TTR: transtiretina

U

UE: Unión Europea

UI: Unidades Internacionales

USA: Estados Unidos de América

UK: Reino Unido

V

VLDL(Very Low Density Lipoprotein): Lipoproteínas de muy baja densidad

Vit.: vitaminas

v/v: volumen/volumen

W

WHO (World Health Organization): Organizacioón Mundial de la Salud)

RESUMEN



RESUMEN

La leche humana de mujeres sanas y bien nutridas es el método ideal para alimentar a los recién nacidos sanos. Los nutrientes que aporta la leche humana permiten un adecuado crecimiento y desarrollo del bebé.

Los lípidos de la leche humana representan la mayor fuente de energía para el bebé alimentado al pecho y son fuente de nutrientes esenciales como las vitaminas liposolubles y los ácidos grasos poliinsaturados.

Los ácidos grasos esenciales, ácido linoléico y α -linolenico (LA y ALA) son precursores de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga incluyendo el ácido araquidónico (AA) y el docosahexaenoico (DHA) (Koletzko, 2001b). Los ácidos grasos

poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL) aportados mediante la leche humana se han relacionado con el desarrollo de diferentes funciones tales como la capacidad visual o el desarrollo cognitivo durante el primer año de vida. Estudios realizados con isótopos estables indican que la mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados en la leche humana no se derivan directamente de la dieta materna, pero son liberados de los depósitos maternos (Koletzko, 1999). No sólo la ingesta dietética durante la lactancia, sino también el estado nutricional de la madre antes y durante la gestación derivado de una adecuada ingesta de nutrientes, van a tener una marcada relevancia sobre la composición lipídica de la madre. La suplementación con DHA en madres lactantes determina un incremento plasmático y en la leche humana de este ácido graso esencial, y a su vez provoca un incremento en las concentraciones plasmáticas del bebé (Jensen, 2000).

El periodo de lactancia se ha descrito como uno de los ciclos biológicos que cursa con un estrés fisiológico más alto, en el que se observa un importante incremento de los requerimientos de proteínas y de energía para producir la leche. Sin embargo, el almacén de energía en forma de grasa durante el embarazo puede proveer una tercera parte del coste energético

de la lactancia durante los primeros 3 meses (Taylor, 1983). El balance de ácidos grasos durante la lactancia está determinado, así como el riesgo de depleción de n-3-AGPI-CL, pudiendo verse comprometida la biodisponibilidad de la madre para proveer a su hijo a través de la leche n-3 AGPI-CL desde sus depósitos y mediante la síntesis endógena. Makrides et al. (Makrides, 2000) han comprobado cómo durante la lactancia, la madre pierde alrededor de 70-80 mg de DHA/día a través de la leche, además del incremento de la oxidación lipídica o de aquellos que son utilizados por la propia mujer para subvenir a sus necesidades incrementadas.

Los carotenoides son una de las mayores fuentes de vitamina A para la leche humana y pueden contribuir sobre el efecto inmuno protector de la leche de mujer. En países en vías de desarrollo se ha observado una baja ingesta de retinol y β -carotenos en mujeres no suplementadas (660 equivalentes de retinol/día) lo que supone menos de la mitad de los que ingieren las mujeres en países industrializados (1540 equivalentes de retinol/día), que a su vez son menores que los recomendados para mujeres lactantes (850 equivalentes de retinol/día) (Newman, 1994). Los suplementos con β -carotenos a la madre lactante van a determinar incrementos en las concentraciones de vitamina A en la leche humana y por tanto, una mejor oferta de

este nutriente a su hijo (Canfield, 1998). Sin embargo, el estudio realizado por Gossage et al. (Gossage, 2002) demuestra que los suplementos con β -caroteno durante la lactancia no modifica de forma significativa las concentraciones en la leche humana de β -caroteno ni de otros carotenoides, ni tampoco incrementa los niveles de retinol ni de α -tocoferol.

El presente estudio tiene los siguientes *objetivos*:

1º.- Determinar la concentración de ácidos grasos poliinsaturados y vitaminas liposolubles en leche de madres lactantes andaluzas.

2º.- Evaluar la evolución de la composición en ácidos grasos poliinsaturados y de vitaminas A y E desde la leche calostrual hasta la leche madura.

3º.- Estudiar la ingesta dietética de nuestra población y determinar las deficiencias en la ingesta de macro y micronutrientes respecto a las recomendaciones diarias admisibles más actualizadas.

4º.- Analizar la influencia de la dieta materna sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados y las vitaminas liposolubles A y E en leche calostrual, leche de transición y leche madura de madres lactantes de nuestra región.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el presente trabajo se ha realizado la determinación en los 3 periodos de la lactancia (calostro, transición y madura) de AG saturados (C10:0; C12:0; C14:0; C16:0; C18:0; C20:0; C22:0; y C24:0), monoinsaturados (C16:1,n-9; C18:1,n-9), poliinsaturados (C18:2,n-6; 18:3,n-3; C20:4,n-6; C20:5,n-3 y C22:6,n-3) y los AG trans (C14:1-trans y C18:1-trans). La composición en ácidos grasos presentes en las muestras de leche recogidas en nuestro estudio en los tres periodos de la lactancia, es comparable a la referida en otros estudios (Domínguez, 1996; Barbas, 1998 Francois, 1998; Scopesi, 2001).

El bajo % de AG saturados obtenido en el presente estudio, parece reflejar los hábitos alimentarios de los países mediterráneos, que, dado el consumo mayoritario de aceites vegetales, las proporciones de ácidos grasos saturados se mantienen más bajas en la leche humana. Al mismo tiempo se observa un incremento significativo del % AG saturados conforme avanza la lactancia ($p < 0,000$), que se produce a expensas de un incremento porcentual estadísticamente significativo de los ácidos grasos saturados de cadena media, Cáprico, Laúrico y Mirístico, desde la leche calostrada a la leche madura (Figura 10) y, que reflejaría un aumento de la síntesis de novo en la glándula

mamaria, tal y como ha sido publicado por otros autores (Barbas, 1998). La distribución porcentual de los distintos AG saturados estudiados en la leche humana en el presente estudio, son comparables a las descritas en países de nuestro entorno (Domínguez, 1996, Scopesi, 2001).

Se observa una disminución estadísticamente significativa en la distribución porcentual del *ácido palmítico* desde la leche calostrala a la madura, hecho que quedaría justificado por la disminución de la fracción grasa en la leche madura respecto a la leche calostrala.

Los *ácidos grasos monoinsaturados* aparecen en un 37% en leche calostrala, en un 33% en la leche de transición y en un 40% en la leche madura. El porcentaje de distribución del ácido oleico del total de ácidos grasos en las muestras de leche de las madres del presente estudio (Figura 11) es muy superior al % descrito en países subdesarrollados (Boersma, 1991), debido a un menor consumo de ácidos grasos provenientes de grasas animales, aceites de oliva y colza (Koletzko, 1992b), y más parecida a estudios realizados en nuestro país (Barbas, 1998), aunque ligeramente inferior a estudios realizados en Italia (Scopesi, 2001). En el presente estudio se observa una

disminución del % de ácido oleico, respecto al total de ácidos grasos, conforme avanza la lactancia (Figura 11).

En lo que se refiere a los *ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)*, el porcentaje total en la leche de calostro es de 18%, en la leche de transición de 17,1% y en la leche madura de 18,3%, no habiendo diferencias significativas para el conjunto de los AGPI a lo largo de la lactancia. El más abundante con diferencia es el ácido linoleico {leche madura: $16,59 \pm 3,35$ %} como queda reflejado en las tablas XIV, XXIII y XXXII hecho coincidente con otros estudios (Domínguez, 1997; Scopesi, 2001). La alta proporción en ácido linoleico en la leche humana de mujeres españolas, se explica por el alto consumo de AGPI presentes en los aceites vegetales y en el pescado respecto a otros países europeos (Michaelsen, 1994).

El ácido linolénico (ALA) se incrementa a lo largo de la lactancia, mientras el ácido linoleico (AL) se mantiene sin variaciones significativas (Figura 7), lo que determina un descenso del cociente AL/ALA conforme avanza la lactancia. No obstante, las madres españolas participantes en el estudio presentan un índice AL/ALA muy por encima de 15:1 (coincidente con las estimaciones para los países industrializados que están entre 15–20:1, cuando deberían ser inferiores a 10:1). Esto

sugiere un cambio en los hábitos alimentarios con un consumo creciente de grasas con mayor contenido en ácido linoleico y menor en ácido linolénico, hecho ya observado y puesto de manifiesto en otros países europeos (Michaelsen, 1994; Xiang, 2005).

De los AGPI de cadena larga (AGPI-CL), el ácido araquidónico (AA) oscila entre 0,23%-0,75% y el ácido docosahexaenoico (DHA) oscila entre 0,15%-0,56%, siendo el rango de DHA superior al de otros estudios (Koletzko, 1992b). Se observa un descenso de los niveles de AA y DHA conforme avanza la lactancia, ya descrito en diversos estudios (Domínguez, 1997, Agostoni, 2001, Scopesi 2001; López-López, 2002), probablemente debido a la maduración de los sistemas enzimáticos de las Δ -desaturasas conforme crece el bebé, siendo éste capaz de forma progresiva de sintetizar DHA y AA a partir de los AGPI precursores. La preservación del cociente AL/ALA a favor de los ω -3 en la leche humana conforme avanza la lactancia también podría estar relacionado con el efecto antiinflamatorio y antialérgico de la serie ω -3, lo que explicaría alguno de los efectos beneficiosos de la leche materna sobre el desarrollo del sistema inmune (Calder, 2006).

El contenido en *ácidos grasos trans* de la leche humana varia reflejando la ingesta diaria de estos ácidos grasos. En nuestro estudio se ha determinado el ácido graso C18:1 trans, que constituye el principal ácido graso trans de la dieta, y el ácido C14:1 trans; ambos se mantuvieron estables en su eliminación tanto en calostro como en leche de transición o leche madura. En el presente estudio se han podido establecer correlaciones positivas entre el C:14-trans y los ácidos grasos linoleico, linolénico, AA y DHA {n:81, r:0,36, p=0,001; r:0,41, p=0,000; r:0,39, p=0,000; r:0,41, p=0,000, respectivamente}. Estos resultados indican que un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados se acompaña simultáneamente de altas concentraciones de C:14-trans. También se ha demostrado una correlación positiva entre el % de 18:3n-3 y el C18:1trans (n: 23, r:0,87, p=0,0000), al igual que correlaciones inversas entre el contenido de C:18-1 trans en la leche humana y el contenido en AA y DHA {n:81, r:-0,28, p=0.010; r:-0,30, p=0.007, respectivamente}, probablemente debido a una inhibición de la desaturación del ácido linoleico hacia AA. El potencial efecto perjudicial de este ácido graso sobre el organismo en desarrollo del lactante es aún desconocido y requiere más estudios.

En el presente estudio se ha podido establecer una correlación positiva entre la ingesta de grasa total (%) y las

concentraciones de Vitamina E ($r:0.423$, $p=0.016$) en la leche de transición, así como entre el % de ingesta de ácidos grasos poliinsaturados y las concentraciones de Vitamina A en la leche de transición de las muestras estudiadas ($r: 0.45$, $p=0.010$).

El análisis de la dieta de las madres lactantes andaluzas del presente estudio muestra que en el 93% de los casos, la *ingesta energética* es muy inferior a las recomendaciones y, por el contrario, es hiperglucídica (77%) e hiperproteica (94%) según la RDA 2002. Igualmente, el 40.6% de las mujeres lactantes participantes presentan un déficit de ingesta de AGPI respecto a las recomendaciones (RDA). Casi ninguna mujer ingiere la cantidad recomendada de vitamina E (99%), lo cual indica un déficit considerable en los sistemas de antioxidación no enzimática natural. La media de ingesta diaria fue de 7.6 ± 2.8 mg, cifra muy por debajo de las recomendaciones del 2002 sobre ingesta diaria adecuada de esta vitamina (19 mg/día). Por otro lado, las necesidades diarias de vitaminas A y C son cubiertas por el 79,7% de las mujeres (Tabla XLI).

INDICE DE LA TESIS



INDICE DE LA TESIS

	Pág.
INTRODUCCION	1
1. Composición de la leche humana	4
1.1 Proteínas	6
1.2 Carbohidratos	7
1.3 Lípidos	7
1.4 Vitaminas y minerales	14
1.5 Enzimas	13
1.6 Hormonas	13
1.7 Aspectos inmunológicos	13
2. Influencia de la dieta en la composición de la leche	13
2.1 Influencia de la dieta sobre la composición lipídica de la leche materna	14
2.2 Influencia de la dieta materna sobre la composición en hidratos de carbono y micronutrientes de la leche humana	19
2.2.1 Hidratos de carbono	19
2.2.2 Vitaminas	19
2.2.3 Minerales	22
2.2.4. Otros micronutrientes	23
3. Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)	24
3.1 Ácidos grasos	24
3.2 Metabolismo de los ácidos grasos	34
3.2.1 Digestión y absorción de las grasas	34
3.2.2 Oxidación de los ácidos grasos	35
3.2.3 Biosíntesis de los ácidos grasos	39
3.3 Fuentes de ácidos grasos	43
3.4 Funciones de los ácidos grasos	44
3.4.1 ÁGPI-CL y desarrollo cerebral	45
3.4.2 AGPI-CL y agudeza visual	51
3.4.3 Formulas infantiles y AGPI de cadena larga	56
3.5 Metabolismo de los AGPI durante la lactancia	57
4. Vitamina A	60
4.1 Definición	61
4.2 Estructura	63
4.3. Funciones fisiológicas	64
4.3.1 Diferenciación celular	65
4.3.2 Efectos hormonales	68
4.3.3 Actuación en la visión	69
4.4 Ingesta de vitamina A	70

4.4.1 Recomendaciones oficiales para la ingesta dietética de vitamina A (RDA)	73
4.4.2 Determinación del estado nutricional de vitamina A	74
4.5 Metabolismo de la vitamina A	79
4.5.1 Absorción	79
4.5.2 Almacenamiento	84
4.5.3 Movilización: proteína transportadora de retinol	85
4.5.4 Transporte intercelular de vitamina A	90
4.5.5 Captación celular del retinol	91
4.5.6 Reciclaje y homeostasis del retinol plasmático	94
4.5.7 Metabolismo Intracelular del retinol	97
4.5.8 Excreción	100
5. Vitamina E	101
5.1 Historia	101
5.2 Estructura química	105
5.3 ingesta dietética de vitamina E	108
5.3.1 Determinación del estado nutricional de vitamina E	119
5.4 Metabolismo de la vitamina E	112
5.4.1 Absorción	112
5.4.2 Transporte	116
5.4.3 Distribución	119
5.4.4 Excreción	121
5.5 Funciones	122
JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	129
MATERIAL Y METODOS	135
1. Casuística	137
2. Análisis Bioquímico	140
2.1 Técnica para la determinación de AGPI de la leche humana	140
2.2 Técnica para la determinación de vitamina A y E en la leche humana	142
3. Análisis estadístico	147
RESULTADOS	153
1. Análisis descriptivo	155
1.1. Ingesta dietética en las madres lactantes en los tres momentos de estudio	155
1.2. Análisis de la composición en vitaminas A y E y ácidos grasos en leche humana de las madres lactantes andaluzas estudiadas	159

1.2.1 Composición en vitaminas A y E y ácidos grasos en leche calostroal	159
1.2.2 Composición de vitaminas A y E y ácidos grasos en la leche de transición de las madres lactantes andaluzas participantes en el presente estudio.	163
1.2.3 Composición de vitaminas A y E y ácidos grasos en leche madura de las madres lactantes andaluzas participantes en el estudio.	166
2. Análisis inferencial	170
2.1 Ingesta dietética vs Recomendaciones Diarias Admisibles (RDA, 2002)	170
2.2 Análisis de varianza y test de comparación de medias para variables dependientes, para estudiar las diferencias en las vitaminas A y E y los distintos ácidos grasos analizados según el momento de la lactancia	171
2.2.1 Comparación de las concentraciones totales de vitaminas A y E en leche humana y del % de AGPI, AGS, AGMI y ácidos grasos trans del total de ácidos grasos medidos en las distintas fases de la lactancia	171
2.2.2 Comparación de las concentraciones totales de ácidos grasos ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) analizados en la leche de las madres participantes en el estudio, según el momento de la lactancia	179
3. Análisis de correlación	182
DISCUSION	197
CONCLUSIONES	231
BIBLIOGRAFIA	239

INTRODUCCION



INTRODUCCION



Durante los primeros años de vida, la dieta del ser humano debe aportar los nutrientes que permitan un adecuado crecimiento, desarrollo y maduración. La leche materna es el alimento idóneo durante los primeros 4-6 meses de vida, ya que su composición se adapta a las limitaciones fisiológicas del tubo digestivo, del metabolismo intermediario y de la función renal.

La lactancia materna exclusiva, de una madre bien nutrida y sana, puede satisfacer las necesidades nutricionales de su hijo, al menos durante los 6 primeros meses de la vida.

1. COMPOSICIÓN DE LA LECHE HUMANA

La leche humana es un fluido biológico complejo integrado por cientos de constituyente que se distribuyen en varios compartimentos: una fase acuosa con sustancias en solución (87%), dispersiones coloidales de moléculas de caseína (0,3%), emulsiones de glóbulos de grasa (4%), glóbulos de grasa en membranas y células vivas. De acuerdo con sus propiedades físicas y fisiológicas estos constituyentes se clasifican en: proteínas, nitrógeno no proteico, carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales y constituyentes iónicos, minerales traza y células (Picciano, 2001).

La leche humana cronológicamente tiene diferente composición el calostro, la leche de transición y la leche madura. La composición se modifica a lo largo de la toma, siendo al comienzo más rica en hidratos de carbono y agua, y al final más abundante en lípidos y pobre en agua. La producción láctea de la glándula mamaria es mayor y más rica en las horas de la mañana. Todas las variaciones parecen estar relacionadas con el umbral de saciedad del lactante. La ausencia de estos cambios en la leche de fórmula da lugar a un dintel de saciedad más elevado, precisando de mayor ingesta de alimento que puede inducir obesidad.

Se distinguen tres grupos de leche de diferente composición:

En los primeros 4–6 días de vida se produce el *calostro*: con un valor energético inferior (671 kcal/L), pero de mayor contenido en proteínas, sobretodo Ig A secretora y lactoferrina, oligosacáridos, factor de crecimiento intestinal y diversos minerales.

La leche de *transición* (6°–15° día de vida), tiene una composición intermedia entre el calostro y la leche madura, con disminución de la cantidad de inmunoglobulinas, y aumento de lactosa, lípidos y vitaminas hidrosolubles.

La leche *madura* tiene un mayor contenido calórico (700 Kcal/L), suficiente para cubrir las necesidades energéticas del lactante.

La leche humana así como la de otros mamíferos, contiene un grupo de sustancias biológicamente activas llamadas “factores tróficos” o moduladores del crecimiento, así como los denominados nutrientes esenciales condicionales (AGPI-CL, oligosacáridos y nucleótidos).

1.1. Proteínas

En comparación con la leche de otros mamíferos, el contenido proteico de la leche humana es más bajo (0,9–3,5 g/dl), lo que representa el 5% de la ingesta calórica. Se estima actualmente que la proteína disponible nutricional puede ser menos de 9 g/L (Räihä, 1988).

Las principales proteínas de la leche humana son las del suero (60–70% del total de proteínas): su principal componente es la α -lactoalbúmina, seguida por la lactoferrina. Destaca la ausencia de β -lactoalbúmina, que predomina en la vaca y que es una de las responsables de los problemas alérgicos de los niños alimentados con fórmula. El 20% de las proteínas corresponden a caseína.

En la leche humana existen otros componentes que también contienen nitrógeno: es el denominado nitrógeno no proteico (NNP) que constituye del 8–30% del contenido total de nitrógeno. Su significado es incierto, aunque se conoce el papel nutritivo de algunos de sus componentes y el fisiológico de otros. Parte de estos NNP se dedica a la síntesis de aminoácidos no esenciales y otros tienen funciones específicas y son los llamados “factores tróficos” o moduladores del crecimiento que

se clasifican en tres grupos: hormonas y péptidos tróficos, nucleótidos y sustancias derivadas; y poliaminas.

1.2. Carbohidratos

El contenido en la leche humana de carbohidratos es de 7 g/dl, constituyendo el 40–50% del aporte de energía. Prácticamente el 90% aparece como lactosa. Esta favorece la absorción de calcio y promueve un correcto desarrollo de la flora lactobacilar en la luz intestinal. El 10% restante de los carbohidratos se encuentran en forma de oligosacáridos, de los que se han identificado más de 130, por ejemplo: fructosa, glucosalina, galactosamina e inositol.

1.3. Lípidos

El contenido medio en grasas de la leche humana es de 3.8–3.9 g/100 ml. Aporta del 40–50% del contenido calórico. Prácticamente el 98% son triglicéridos, siendo el resto diglicéridos, glicolípidos, esteroides, ésteres de esteroles y colesterol. En cuanto a la distribución de los ácidos grasos destaca el predominio de los de cadena larga, sobre la práctica ausencia de cadena corta y escasa cantidad de cadena media. El ácido graso mayoritario es el ácido oleico.

El contenido medio en grasas de la leche humana es de 3.8–3.9 g/100 ml, pero esto es muy variable. La grasa en la leche humana aparece en forma de glóbulos de grasa que se forman en las células alveolares de la glándula mamaria. Estos glóbulos de grasa tienen un centro hidrofóbico que es rico en triglicéridos y ésteres de colesterol y retinil ésteres. La superficie está formada por fosfolípidos, proteínas, colesterol y enzimas.

La producción de leche está estimulada por el vaciamiento durante la tetada y por la prolactina secretada por el lóbulo anterior de la hipófisis. La mayor parte de la grasa de la leche procede de la dieta materna, y de las reservas maternas. Parte de la grasa de la leche puede ser sintetizada de novo en la glándula mamaria a partir de glucosa, dando lugar a la formación de ácidos grasos saturados con 10–14 átomos de carbono (Thompson, 1985). La proporción de estos ácidos grasos de cadena media sintetizados de novo, aumenta cuando la dieta de la madre lactante es rica en hidratos de carbono y pobre en grasas (Koletzko, 1991a). El contenido de DHA de la leche humana varía hasta 10 veces, siendo menor en mujeres con baja ingesta o nula de DHA y muy alto en las mujeres con alta ingesta de DHA (Innis, 2004).

La mayor parte de la grasa de la leche humana está formada por los triglicéridos (>98% del total). Los fosfolípidos constituyen sobre el 0,7% (25 mg/dl) (Jensen, 1996) y el colesterol el 0,5% (10–20 mg/dl o 250–500 mg/100 g grasa). (Laegreid, 1987). La leche humana contiene con respecto a leche de otros mamíferos, menos grasas saturadas, más nivel de ácido oleico y más cantidad de ácido linoleico aunque en menor medida que este último. En relación con los ω -3, presenta además del linolénico, los derivados de este como EPA Y DHA, aunque la suma total de ácidos grasos ω -3 es pequeña (0.08 g/100 g) cumple importantes funciones en el desarrollo del sistema nervioso y la retina del neonato como ha sido referido anteriormente.

La dieta de la madre influye la composición de los ácidos grasos de los lípidos de la leche. Por ejemplo los ácidos grasos esenciales, linoleico y linolénico, deben proceder de la dieta materna ya que no pueden ser sintetizados por el organismo humano. Se ha demostrado que el contenido de DHA de la dieta materna es el mayor factor determinante de la cantidad de DHA presente en la leche de la madre, y por tanto, de la cantidad que ingerirá su bebé (Innis, 2004). El contenido en la leche del ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y el docosahexaenoico (DHA) pueden incrementarse por el consumo

de grasas de pescado como son: arenque, caballa y salmón; o mediante la suplementación con aceite de pescado. También el contenido en ácidos grasos trans en la leche reflejan la ingesta materna de estos ácidos grasos que son mayores en América del norte y Europa que en la África rural, donde el consumo de grasas hidrogenadas es bajo (Koletzko, 1991a; Koletzko, 1991b). Un incremento rápido del contenido de ácidos grasos *trans* en la leche ha sido descrito tras el consumo por la madre. (Chappel, 1985).

La dieta materna no tiene sólo efectos a corto plazo sino que poseen un efecto a largo plazo en el contenido de ácidos grasos de la leche materna. Francois y col. (1998) describe un importante incremento de los ácidos grasos en la leche materna a las 6 horas de la ingesta, con un pico entre las 10 y las 24 horas y que se mantiene elevado durante 1-3 días. Comparado con otros ácidos grasos, los AGPI-CL en la leche mostraron picos más tardíos (a las 24 horas de la ingesta). Describen igualmente, que el contenido en ácidos grasos de la leche en aquellas con una importante reserva, es menos afectado por los cambios en la dieta que en aquellos casos con pocas reservas (Francois, 1998). Por tanto, respecto a la concentración de ácidos grasos poliinsaturados esenciales de las series n-6 y n-3, se sabe de la

existencia de grandes diferencias en las concentraciones de éstos nutrientes en la leche humana respecto a las fórmulas infantiles. Además, están siendo motivo de amplios estudios el determinar los requerimientos de ácidos grasos n-3 y el balance de las series n-6 y n-3 en la ingesta de la mujer gestante y durante la lactancia, con el objetivo de obtener un crecimiento y desarrollo óptimos del cerebro y la retina del feto y del bebé, así como para minimizar o disminuir los riesgos de enfermedades crónicas (obesidad, enfermedad cardiovascular, diabetes, alergias,...) a largo plazo, incluso en la vida adulta (Innis, 2004).

1.4. Vitaminas y minerales

Las vitaminas hidrosolubles y liposolubles están presentes en cantidad suficiente en la leche de la mujer, con la excepción de la vitamina D que sólo cubre la cuarta parte de las necesidades del lactante y de la vitamina K.

La concentración de vitamina E en leche humana varía ampliamente desde el calostro a la leche madura, y también dependiendo de la dieta y de la zona geográfica. Un estudio reciente realizado en 4000 madres japonesas ha demostrado grandes diferencias en la composición en vitaminas liposolubles e hidrosolubles dentro de la población estudiada. Las

concentraciones medias halladas han sido: vitamina A, 159.0 ± 95.2 IU/100 mL; vitamin E, 0.325 ± 0.165 alpha-Tocoferol mg/100 mL; vitamina D3 (colecalfiferol), 8.0 ± 10.7 ng/100 mL; vitamina B1 (tiamina), 12.3 ± 3.2 μ g/100 mL; vitamina B2, 38.4 ± 12.7 μ g/100 mL; vitamina B6, 5.7 ± 2.5 μ g/100 mL; vitamina B12, 0.04 ± 0.02 μ g/100 mL; vitamina C, 5.1 ± 1.9 mg/100 mL; biotina, 0.50 ± 0.23 μ g/100 mL; colina, 9.2 ± 1.8 mg/100 mL; ácido fólico, 6.2 ± 2.9 μ g/100 mL; inositol, 12.6 ± 3.6 mg/100 mL; niacina (nicotinamida), 32.9 ± 20.4 μ g/100 mL y ácido pantoténico, 0.27 ± 0.09 mg/100 mL (Shakurai, 2005).

El contenido en hierro de la leche humana es bajo (0,5 mg/L), pero la presencia de lactoferrina permite que se absorba en un 50%. La absorción del hierro en la leche de fórmula es sólo del 4% y en la leche de vaca del 10%. El ácido fólico, la vitamina B12 y el cinc tienen unas proteínas ligadoras que facilitan su paso a la leche humana. Es importante la presencia de selenio por su acción antioxidante al formar parte de la glutation-peroxidasa. Los lactantes alimentados con leche materna tienen cifras más elevadas de este mineral que los alimentados con fórmula (Litov, 1991).

1.5. Enzimas

La leche humana contiene de 60–70 enzimas entre las que destacan: lipasa, la amilasa y la proteasa.

1.6. Hormonas

Además de factores de crecimiento se conoce la presencia de hormonas hipofisarias (prolactina, gonadotrofinas), tiroideas y estrógenos.

1.7. Aspectos inmunológicos

La leche de la mujer es rica en agentes defensivos, que explican el menor número de infecciones de los lactantes alimentados con leche materna. Algunos de estos agentes son: IgA secretora (abundante en el calostro), lactoferrina, lisozima, oligosacáridos, agentes citoprotectores, factores madurativos, etc.

2. INFLUENCIA DE LA DIETA EN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE

Se sabe que la dieta de la madre lactante es fundamental, pues su alimentación y estado nutricional influyen sobre la calidad y cantidad de leche segregada. De modo que el estado nutricional previo al embarazo, durante el embarazo y el de la

lactancia, constituye toda una secuencia nutricional (Tagle, 1980).

2.1. Influencia de la dieta sobre la composición lipídica de la leche humana

Los lípidos de la leche materna provienen de los depósitos de grasa maternos y de la síntesis hepática y mamaria, pero no están claros los mecanismos por los que se regula su excreción. Constituyen de un 3-5% de la leche humana y aportan de un 45-55% energía de la leche, por lo que representan la principal fuente de energía para el lactante alimentado al pecho y proporciona nutrientes esenciales como vitaminas liposolubles y AGPI. Los ácidos grasos esenciales AL y ALA son los precursores de los AGPI-CL, como el AA (20:4n-6) y el DHA (22:6n-3).

Durante la vida postnatal el contenido en AGE n-6 y n-3 en leche materna es totalmente necesario para el crecimiento óptimo del lactante, sobre todo para el desarrollo neurológico y actividad visual (Martínez, 1991; Birch, 1992). La suplementación de la dieta materna con DHA origina una elevación significativa de éste en la leche materna, al igual que ocurre con el ácido palmítico y el ácido oleico, sin afectar los niveles de AA y de tocoferol (Fidler, 2000; Makrides, 1996; Ruan, 1995; Helland,

1998). Entre otras funciones, el DHA se relaciona con una mejor estereopsis en el niño a los 3 y 5 años (Williams, 2001).

Se conoce que los niños alimentados con leche humana tienen un mayor desarrollo comparado a aquellos que son alimentados con leche de fórmula, lo que se relaciona con el contenido en DHA en leche materna (Innis, 1992). Si la madre lactante ingiere una concentración alta de DHA el niño también recibirá mayor cantidad de DHA, y sin embargo no afectará al resto de AGPI (Harris, 1984; Gibson, 1997).

En los años 80 se constató que la dieta materna rica en hidratos de carbono y baja en grasas originaba un aumento de los triglicéridos en la leche materna comparada con las que recibían una dieta rica en grasa y baja en hidratos de carbono (Harzer, 1984). Si en la dieta predominaban grasas con AL, fosfolípidos (PL), colesterol (Cho) o ácidos grasos de cadena larga (AGPI) (n-3), éstas se encuentran aumentadas en la leche materna (Innis, 1988, Park, 1999). En general, se ha demostrado que la cantidad de AGPI en la leche materna depende de los ingresos dietéticos de la mujer (Rocquelin, 1998). Sin embargo, en las embarazadas desnutridas, la cantidad de AL y AA en leche

materna proviene principalmente de las reservas maternas (del Prado, 2001).

Es durante el tercer trimestre de la gestación cuando se produce el mayor paso de AGPI-CL desde la madre al feto, por lo que las reservas en el recién nacido prematuro se encuentran mermadas. Como las reservas maternas dependen de la dieta, pueden mejorarse con la suplementación con DHA y AA durante el embarazo y la lactancia. (Hamosh, 1998; Beijers, 1996; Jensen, 1992; Moya, 2000).

Hay una relación entre ingesta y excreción en leche materna de AGPI-CL (C22:6, n-3 y C20:5 n-3) (Hayat, 1999) y esta se hace muy significativa con la evolución de la lactancia, es decir, en la leche madura. (Scopesi, 2001). Sin embargo, estudios recientes con isótopos estables demuestran que la mayor parte de los AGPI en la leche no proviene de la dieta materna, sino de las reservas endógenas (Koletzko, 2001; Sauerwald, 2001). Los AG trans en la leche materna dependen principalmente de la ingesta de la mujer (Koletzko, 1991; Larque, 2001; Ratnayake, 1996). Las dietas ricas en AG trans elevan los niveles de AL en la leche materna, sin afectar a los AGPI-CL (Larque, 2001). En este sentido, numerosos estudios demuestran que el consumo de

margarina puede favorecer el depósito de AG trans en el tejido adiposo de la madre, de donde puede ser movilizado en el curso de la lactancia, pasando a la leche materna. Esto podría producir efectos secundarios en el neonato lactado al pecho. La ingesta de este tipo de grasas es mayor en países de América del Norte o Europa que en África. Por otra parte, el consumo de aceite de oliva aumenta la presencia de ácidos grasos insaturados de cadena media en la leche humana (Chappel, 1985; Pretince, 1989; Boatella, 1993).

La composición de AGPI y oligosacáridos en leche materna experimenta variaciones geográficas que podrían obedecer en última instancia a la variabilidad genética. (Fidler, 2000, Erney, 2000).

Las mujeres que siguen dietas restrictivas, debido a motivaciones filosóficas, culturales o religiosas, son notablemente diferentes de las de la población en general. Pueden mostrar modificaciones importantes en la composición de la leche materna. Dentro de los distintos grupos pueden establecerse diversas categorías: 1) *Lactoovovegetarianos*: en los que está excluida la administración de carne, pero que consumen leche y huevos. 2) *Lactovegetarianos* que excluyen la carne y los

huevos, pero incluyen la leche en la dieta. 3) *Vegetarianos totales* que rechazan cualquier alimento de origen animal: denominados *Vegan*. Los valores de AL oscilan del 8–16% del total de los ácidos grasos, aunque en las mujeres que siguen una dieta Vegan pueden alcanzar valores más altos (Finley, 1985). La ingesta de ALA varía en función de los aceites utilizados, por ello en la dieta seguida por vegetarianos estrictos y vegetarianos con dieta ovoláctea posee mayor contenido en AL y ALA que aquella dieta seguida por los omnívoros. A pesar de las bajas concentraciones de DHA existentes en sangre de niños de madres vegetarianas con respecto a las omnívoras no existe evidencia de que la capacidad de sintetizar AGPI-CL sea limitada en vegetarianos (Sanders, 1999).

En cuanto el contenido de colesterol en leche materna madura no varía con la dieta materna. Se ha observado que la cantidad de colesterol y grasa ingerida no posee correlación con colesterol total sérico de niños lactados al pecho (Jensen, 1990; Kallio, 1992). Sin embargo, sí se ha demostrado que, en la vida adulta, los niveles de colesterol total y LDL-colesterol se encuentran significativamente disminuidos en aquellos sujetos que recibieron alimentación materna frente a los alimentados de forma artificial (Owen, 2003).

2.2. Influencia de la dieta materna sobre la composición en hidratos de carbono y micronutrientes de la leche humana.

2.2.1. *Hidratos de carbono (H de C)*

El contenido de AG de cadena media (C8 y C10) en leche humana aumentan con dieta materna rica en H de C, pues una dieta rica en éstos conduce a una mayor incorporación de ácidos grasos del tipo C6:0–C14:0 en los triglicéridos de la leche, al igual que en cada una de las subclases de fosfolípidos (Bach, 1982; Thompson, 1985; van Beusekom, 1990). El aumento de la demanda de glucosa durante la lactancia se resuelve con el aumento de la glucogenolisis (Tigas, 2002).

2.2.2. *Vitaminas*

El contenido en vitaminas de la leche materna trata de cubrir los requerimientos adecuados para el lactante y sus valores van a depender del estado de nutrición y del aporte de vitaminas que recibe la madre, que en gran parte está en relación con los hábitos alimentarios de diversas áreas geográficas y por lo tanto pueden mostrar una gran variabilidad (Picciano, 1995; RDA, 2002). Además, las concentraciones de determinadas vitaminas en leche humana como α -tocoferol, disminuyen conforme se aumenta en la edad lactacional, con unas cantidades

ligeramente superiores en leche de transición con respecto a la leche madura.

En cuanto a las concentraciones de retinol y carotenos en suero y leche humana son similares y están correlacionadas con la dieta que se ingiere (Canfield, 1995; Lammi-Keefe, 1995; Canfield, 1997; Lietz, 2001).

Los valores séricos de vitamina B₁₂ generalmente son más bajos en los vegetarianos que en los no vegetarianos, de modo que los lactantes alimentados con leche materna de madres con dieta Vegan pueden presentar deficiencias en vitamina B₁₂ si no reciben los correspondientes suplementos exógenos (Armstrong, 1974; MacLean, 1980).

La ingesta de vitamina C repercute positivamente tanto en sus niveles plasmáticos durante el embarazo como en leche materna; por tanto es importante instar al consumo de verduras y fruta a estas mujeres. Las mujeres fumadoras tienen niveles plasmáticos similares a las no fumadoras, pero su cantidad en leche materna es mayor en éstas últimas. (Ortega, 1998a).

El contenido de vitamina D en leche materna en algunos casos puede ser bajo y provocar la aparición de raquitismo. Una exposición materna al sol aumenta la composición de ésta en la leche humana (Brown, 1972; Harrison, 1987).

Se sabe que la vitamina E posee una actividad antioxidante importante y su acción sobre los AGPI-CL. Esta vitamina puede inhibir la peroxidación de los lípidos, reducir el riesgo de anemia hemolítica y otras patologías en los recién nacidos y especialmente en los prematuros (Haglund, 1991; Cho, 1994). Las concentraciones de antioxidantes en leche humana definen probablemente el grado de protección que puede ofrecer frente a la peroxidación. Las mujeres fumadoras poseen una concentración de vitamina E y lípidos significativamente más baja en leche madura que las mujeres no fumadoras. (Kelly, 1990; Ortega, 1998b). Las concentraciones de las vitaminas A y E en leche materna están relacionadas con la dieta (Olafsdottir, 2001, Canfield, 2001).

Se ha sugerido la posibilidad de que el Colesterol intervenga en la secreción de vitamina K en el calostro, ya que existe una correlación entre ellos; esto no se ha demostrado con los PL ni con los lípidos totales. En leche madura, la cantidad de

esta vitamina depende principalmente de la ingesta dietética materna (von Kries, 1987).

2.2.3. *Minerales*

Se ha determinado que no existe influencia del ejercicio sobre la concentración de minerales y electrolitos en la leche humana (Fly, 1998).

Se han observado concentraciones menores de calcio en leche madura respecto a la de transición lo que puede ser modificado si durante el embarazo la mujer recibe un suplemento en calcio. Se ha demostrado que un suplemento diario de calcio de hasta 1000 mg no afecta a las concentraciones de calcio en leche materna, ya que en caso de déficit, éste se ve compensado con un intercambio mineral con el hueso u otros lugares corporales de la madre (Ortega, 1998b; Pretince, 1998; Laskey, 1998).

Los niveles de hierro y cobre presentes en la leche materna no dependen de la dieta materna, infecciones concomitantes, consumo de anticonceptivos orales o tabaco (Dorea, 2000)

Una ingesta diaria de folatos de 380 μg no es la cantidad adecuada para satisfacer la demanda requerida por el lactante, pero sin embargo la cantidad de folatos en la leche materna se mantendrá constante a costa de una disminución en el estado nutricional de las madres lactantes. Esto se solventará con una suplementación en la madre de 1 mg de folato (Ortega, 1998c).

En la lactancia precoz, existe una mayor excreción de cinc (Zn) a la leche y sus niveles se mantienen relativamente constantes a pesar de una baja ingesta en este elemento. Una suplementación de cinc en la dieta materna contribuye a mantener altas concentraciones en leche humana, encontrando una relación entre el aporte de Zn y los valores en la leche materna. De modo que los niños alimentados con leche humana de madres con aporte adecuado de cinc no es necesario un suplemento del mismo (Vuori, 1980; Feeley, 1983; Karra, 1989; Krebs, 1995; Ortega, 1998c; Wauben, 1999).

2.2.4. Otros micronutrientes

La dieta materna es un condicionante fundamental en la cantidad de Yodo en leche materna, según distintos estudios llevados a cabo entre mujeres coreanas, con ingesta diaria elevada de algas marinas (Moon, 1999). Ese yodo transferido al

lactante es esencial para su desarrollo físico y mental (Semba, 2001)

En cuanto al selenio (Se) presente en la leche, su concentración no se relaciona con la época de la lactancia, dieta o índice de masa corporal (Bianchi, 1999). Otros estudios han comprobado la disminución de las cantidades de Se conforme avanzaban los días de lactancia, desde el calostro a la leche madura (Li, 1999, Tamari, 1999). Parece existir una correlación negativa entre el Zn y el Se en la leche materna (Bratter, 1997). En Polonia, se ha comprobado que los recién nacidos reciben una cantidad diaria de Se inferior a la recomendada, en parte debido al bajo contenido de este elemento en el suelo y, consiguientemente, en los alimentos de esta región (Zachara , 2001).

3. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (AGPI)

3.1. Ácidos grasos

Son los lípidos más sencillos siendo también componentes básicos de los lípidos complejos o saponificables junto con otras moléculas. Existen más de 100 clases diferentes de ácidos grasos procedentes de animales, vegetales y microorganismos, pero todos ellos poseen una estructura química similar que les

confiere sus principales propiedades. Se encuentran en cantidades muy importantes en las células y los tejidos pero principalmente como parte de lípidos complejos apareciendo en estado libre (no esterificados) solamente en trazas.

Su estructura básica está compuesta por (Figura 1):

Grupo carboxilo (COOH) hidrófilo.

Cadena hidrocarbonada hidrófila de longitud variable.

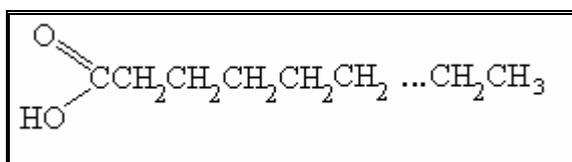


Fig.1. Estructura genérica de los ácidos grasos.

En función de la longitud de su cadena se pueden clasificar en 4 grupos:

Ácidos Grados de cadena Corta (4-6 carbonos)

Ácidos Grados de cadena Media (8-12 carbonos)

Ácidos Grados de cadena Larga (14-18 carbonos)

Ácidos Grasos de cadena Muy Larga (20 o más carbonos)

Y Según su estructura química se clasifican en:

Ácidos Grasos Saturados: todos los carbonos de la cadena hidrocarbonada están saturados de hidrógeno (no tienen dobles enlaces), ejemplos: esteárico, palmítico, araquídico...

Ácidos Grasos Insaturados: contienen uno o varios dobles enlaces, presentando carbonos sin saturar de hidrógeno, ejemplos: oleico, linoléico, araquidónico... A su vez se dividen en **monoinsaturados** cuando poseen solamente un doble enlace y **poliinsaturados** si tienen dos o más dobles enlaces.

La presencia de un doble enlace, además de producir cambios en la capacidad de reacción de los ácidos grasos, cambia su forma física y su comportamiento, cada doble enlace introduce una flexión en la cadena hidrocarbonada. Los dobles enlaces pueden estar en posición *Cis* o *Trans* (Figura 2).

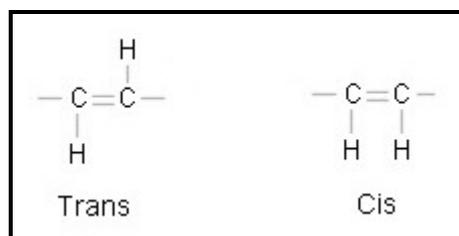


Fig.2

El doble enlace en posición *trans* mantiene la cadena casi lineal, y es parecida a la que no tiene doble enlace. Mientras que

el doble enlace en posición *cis* produce una importante flexión produciendo un ángulo de 30 grados en la cadena hidrocarbonada. En la mayoría de los ácidos grasos que existen en la naturaleza la orientación de los dobles enlaces es *cis*.

Los distintos ácidos grasos se diferencian entre sí en primer lugar por la longitud de la cadena hidrocarbonada y en segundo lugar por el número y la posición de dobles enlaces que poseen. La mayor parte de los ácidos grasos tienen un número par de átomos de carbono. En la tabla I se muestran los principales ácidos grasos. El nombre común designa normalmente el árbol, fruto o materia donde se encuentra, por ejemplo: Ácido láurico (de la semilla del laurel), Ácido Mirístico (de la nuez moscada del miristo), Ácido Palmítico (del aceite de palma), Ácido Oleico (del aceite de oliva), Ácidos Linoleico y Linolénico (del aceite de lino o linaza), etc. El nombre sistemático o químico especifica el número de átomos de carbono, el número de dobles enlaces, y la posición en que se encuentran. Siempre se numera como carbono 1 al que contiene la función ácido (COOH).

Los ácidos grasos son ácidos débiles, por lo que a los pH fisiológicos se encuentran en forma aniónica (RCOO⁻), por lo que

sería más correcto hablar de estearato, oleato,... en vez de ácido esteárico, oleico,...

Para denominar a los ácidos grasos se utiliza un sistema de notación. El primer número corresponde al número total de átomos de carbono. Después se escriben “:.” El segundo número (tras los dos puntos) es el número total de dobles enlaces. Las configuraciones y posiciones de los dobles enlaces se indican mediante *c* (*cis*) o *t* (*trans*), seguidos por Δ y uno o varios números. Estos números corresponden al átomo de carbono (contando desde el carboxilo) en el que se inicia cada doble enlace. Ejemplos: el ácido palmitoleico se designa 16:1c Δ 9, tiene 16 átomos de carbono, un doble enlace en posición *cis* entre el carbono 9 y 10; el ácido esteárico se designaría 18:0, contiene 18 átomos de carbono y ningún doble enlace; el ácido araquidónico se representa por 20:4c Δ 5, 8, 11,14, tiene 20 átomos de carbono y cuatro dobles enlaces en posición *cis* entre los carbonos 5 y 6, 8 y 9, 11 y 12 y 13 y14.

Tabla I. Principales ácidos grasos

Nº DE C	DOBLES ENLACES	NOMBRE COMÚN	NOMBRE SISTEMÁTICO	FORMULA
10	0	Cáprico	n-Decanoico	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH
12	0	Láurico	n-Dodecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH
14	0	Mirístico	n-Tetradecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
16	0	Palmítico	n-Hexadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
18	0	Estearico	n-Octadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH
20	0	Aráquico	n-Eicosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH
22	0	Behénico	n-Docosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH
24	0	Lignocérico	n-Tetracosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH
16	1	Palmitoleico	cis-d9-Hexadecenoico	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH = CH(CH ₂) ₇ COOH
18	1	Oleico	cis-d9-Octadecenoico	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH = CH(CH ₂) ₇ COOH
18	2	Linoleico	cis,cis-d9-,d12-Octadecadienoico	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH = CHCH ₂) ₂ (CH ₂) ₆ COOH
18	3	Linolénico	todo cis-d9,d12,d15-Octadecatrienoico	CH ₃ CH ₂ (CH = CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₆ COOH
20	4	Araquidónico	todo cis-d5,d8,d11,d14-Eicosatetranoico	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH = CHCH ₂) ₄ (CH ₂) ₂ COOH

Otra forma de denominar los ácidos grasos es la denominación **Omega**. Se llaman carbono *Alfa* al contiguo al COOH, *Beta* al siguiente, *Gamma* al siguiente y *Omega* al más alejado (Figura 3).

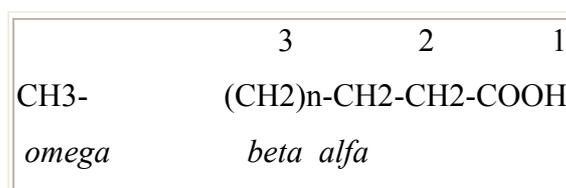


Fig. 3

Se dice que un ácido graso es Omega3 cuando tiene un doble enlace a 3 Carbonos de distancia del extremo, donde se encuentra el grupo metilo (CH₃).



Por tanto ácidos grasos Omega3 es una denominación de los ácidos grasos que tienen un doble enlace en dicha posición y la -R- puede ser cualquier compuesto. Igual ocurriría para los omega 6 pero en dicha posición.

Según esta clasificación los ácidos grasos se pueden dividir en cuatro familias, omega 3, 6, 7 y 9. Sus precursores y su fórmula general se muestran en la tabla II.

Tabla II: Ácidos grasos de la familia omega

PRECURSOR	FORMULA
Linolénico (w-3)	CH ₃ -(CH ₂) ¹ -CH = CH-R
Linoleico (w-6)	CH ₃ -(CH ₂) ⁴ -CH = CH-R
Palmitoleico (w-7)	CH ₃ -(CH ₂) ⁵ -CH = CH-R
Oleico (w-9)	CH ₃ -(CH ₂) ⁷ -CH = CH-R

Normalmente los ácidos grasos se encuentran en la naturaleza en forma esterificada: los triglicéridos (TG) o triacilglicéridos. Están formados por una molécula de glicerina

esterificada por 3 ácidos grasos. Si los tres grupos hidroxilo de la glicerina son esterificados por ácidos grasos, la estructura resultante se denomina triacilglicérido. Son la familia más abundante de lípidos y la principal forma de almacenamiento de energía de numerosos organismos incluyendo el ser humano. Constituyendo reservas de energía mucho más eficaces que los hidratos de carbono.

Existen numerosos tipos de triacilglicéridos en función de los ácidos grasos que esterifiquen a la glicerina. Si las tres posiciones están ocupadas por el mismo ácido graso se les denomina *triacilglicéridos simples* y si contienen dos o más ácidos grasos *triacilglicéridos mixtos*. La mayoría de las grasas y aceites naturales son mezclas complejas de triacilglicéridos simples y mixtos.

El punto de fusión de estas moléculas es determinado por los ácidos grasos componentes y de forma general es mayor cuanto mayor es el número y la longitud de los ácidos grasos saturados componentes. Llamándose grasa a los que son sólidos a temperatura ambiente (20°C) y aceites a los que son líquidos.

Los *fosfoglicéridos* (glicerofosflidos) constituyen la segunda gran clase de los lípidos complejos, y se caracterizan porque uno de los grupos hidroxilo de la glicerina se encuentra esterificado por el ácido fosfórico y el resto de grupos hidroxilo por ácidos grasos. Constituyen una parte esencial de las membranas celulares. A veces se les designa como fosfolípidos en referencia a su composición (lípidos más fosfato) aunque debe tenerse en cuenta que no todos los lípidos que contienen fósforo son fosfoglicéridos como la esfingomielina que pertenece los esfingolípidos.

Ácidos grasos trans

Dentro de los ácidos grasos insaturados prevalecen los isómeros *cis*, aunque también hay dobles enlaces en posición *trans*: es la configuración en la que los hidrógenos se sitúan a una y otra parte del enlace. Esta configuración hace que estos ácidos grasos sean rectos, parecidos a los ácidos grasos saturados, dando lugar a una molécula más rígida con diferentes propiedades físicas, tales como un mayor punto de fusión o mayor estabilidad termodinámica (Schofield, 1979).

Estos ácidos grasos proceden de forma natural de la leche y de la carne de rumiantes en cuyo compartimento gástrico se

forman por efecto de la flora luminal. También se pueden originar por transformación química de los ácidos grasos naturales que tienen dobles enlaces *cis* en determinados procesos tecnológicos como hidrogenación, refinación de aceites, etc...

Los ácidos grasos *trans* más importantes son los C18 *trans* monoinsaturados, presentes en aceites vegetales parcialmente hidrogenados y en las grasas de los rumiantes. Siendo el C18:1 10t el más prevalente en aceites vegetales (Shofield, 1967) y el C18:1 11t en la leche (Hay, 1970). El aporte medio estimado en el norte de Europa de los principales ácidos grasos *trans* es del 4-6% de los lípidos totales, aunque hay variaciones individuales. En España las estimaciones mediante encuestas alimentarias sitúan el consumo sobre el 1,7% (Hulshof, 1999). Los ácidos grasos *trans* han sido estudiados por sus posibles efectos patológicos, se ha demostrado que son hipercolesterolemiantes así como que producen un aumento de la lipoproteína a, la cual tiene un elevado poder aterogénico. También ha sido descrito la posible interacción entre los AG *trans* y los AG esenciales, pudiendo suprimir de forma moderada la producción de derivados de los ácidos grasos esenciales.

3.2. Metabolismo de los ácidos grasos

3.2.1 *Digestión y absorción de las grasas*

Tras la ingesta de alimentos que contienen grasas, se inician 2 procesos fisiológicos, digestión y absorción, que culminan con la formación de partículas ricas en triglicéridos (quilomicrones) susceptibles de ser asimilados por las células de nuestro organismo.

La digestión de las grasas comienza en la boca donde, como respuesta a la masticación y a los estímulos nerviosos, se segrega la lipasa lingual. Esta enzima hidroliza los enlaces ésteres de los ácidos grasos de cadena corta y media (preferentemente en las posiciones 1 y 3) de los triglicéridos. La emulsión grosera que se forma en el estómago pasa por el píloro al duodeno, donde el pH aumenta hasta alcanzar la neutralidad, se liberan ácidos biliares, se favorece una microemulsión y actúa la lipasa pancreática que cataliza la transformación de todos los triglicéridos en ácidos grasos libres (de cadena corta, media y larga) y 2-monoglicéridos. El jugo pancreático contiene además fosfolipasa A₂, colesterol esterasa y colipasa, que hidrolizan otros lípidos de la dieta, fosfolípidos y ésteres de colesterol. Todos los

productos de la digestión de los triglicéridos participan en la formación de micelas mixtas o agregados moleculares que atraviesan la “capa de agua inmóvil” y la membrana de los enterocitos de la mucosa intestinal, con la ayuda activa de la propia lipasa pancreática y proteínas específicas en la superficie celular. En el citoplasma del enterocito tiene lugar la reconversión secuencial de los ácidos grasos y 2-monoglicéridos en triglicéridos. Estos triglicéridos junto con otros lípidos resintetizados (fosfolípidos y ésteres de colesterol), migran en forma de vesículas desde la región apical a la basal del enterocito. En su tránsito se incorpora una proteína específica, apolipoproteína B-48, hasta formar los quilomicrones. Mediante un proceso de exocitosis, los quilomicrones se segregan a los capilares linfáticos del plexo mesentérico, de donde pasan a los vasos linfáticos y finalmente al torrente circulatorio.

3.2.2 Oxidación de los ácidos grasos

En sangre los quilomicrones interactúan con dos enzimas: la lipoproteína lipasa (actividad hidrolítica sobre los triglicéridos) y la lipasa endotelial (actividad hidrolítica sobre los fosfolípidos), ambas localizadas en la pared de los vasos sanguíneos; se produce la lipólisis de los triglicéridos, y los ácidos grasos se liberan en las proximidades de las células del

endotelio. Por su propia naturaleza, los TG son moléculas apolares e hidrofóbicas, y aquellos que no se utilizan inmediatamente después de la ingesta de los alimentos (período postprandial) se almacenan en forma de gotas de grasa en el interior de las células del tejido adiposo. Durante el periodo interdigestivo (ayunas), los ácidos grasos del tejido adiposo se “movilizan”, (hidrólisis de TG catalizada por una lipasa sensible a hormonas (insulina) presente en el citoplasma de los adipocitos) y unidos a la albúmina se transporta en sangre hasta que son captados y convenientemente metabolizados por la células de nuestro organismo. El hígado, músculo esquelético, corazón y corteza renal son los principales aceptores de estos ácidos grasos, produciendo energía por oxidación. En el hígado también pueden formar parte de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

Aproximadamente el 95% de la energía disponible de los TG reside en sus 3 ácidos grasos, y el 5% en la molécula de glicerol. Cuando se libera el glicerol, se fosforila por una glicerol quinasa y el glicerol 3-fosfato (G-3-P) resultante se oxida por la G-3-P deshidrogenasa hasta dihidroxiacetona fosfato. La enzima glucolítica triosa fosfato isomerasa convierte este compuesto en gliceraldehído-3-fosfato que se oxida a través de la ruta de la

glucólisis hasta piruvato. En condiciones aeróbicas el piruvato se transforma en acetil-coenzima A (CoA). El ciclo del ácido cítrico utiliza el acetil-CoA como sustrato hasta producir Co_2 . En estos procesos se producen moléculas donadoras de electrones (NADH y FADH_2) que mediante la cadena respiratoria, generan ATP según la llamada “fosforilación oxidativa”. El balance energético es favorable y resulta en la obtención de 22 moléculas de ATP a partir de una molécula de glicerol.

Las enzimas de la oxidación de los ácidos grasos se encuentran en la matriz mitocondrial de las células. Sin embargo los ácidos grasos procedentes de la hidrólisis de los TG se acumulan en el citoplasma celular y no pueden inicialmente atravesar la membrana de las mitocondrias. Esto se resuelve mediante la “activación” de los ácidos grasos y su transporte activo desde el exterior hasta el interior mitocondrial. Esto implica 3 reacciones: transformación del ácido graso en acil-CoA por distintas isoenzimas de la acil-CoA sintetasa (según sean ácidos grasos de cadena corta, media o larga); transesterificación del grupo acilo de este sustrato a la carnitina por la carnitina aciltransferasa I, de manera que el producto formado (acil-carnitina) difunde unido al transportador acil-carnitina/carnitina por la membrana mitocondrial al interior de la mitocondria; y

liberación del ácido graso, de nuevo en forma de acil-CoA, por la carnitina aciltransferasa II.

En la mitocondria, los ácidos grasos (como acil-CoA) se oxidan en 3 fases:

La primera fase se llama β -oxidación y consiste en la separación progresiva y secuencial de 2 átomos de carbono de la molécula de acil-CoA en forma de acetil-CoA, comenzando por el extremo carboxilo final de la cadena hidrocarbonada del ácido graso. El número de residuos de acetil-CoA que se liberan depende del número de átomos de carbono del ácido graso.

En la segunda fase, las moléculas de acetil-CoA se utilizan en el ciclo del ácido cítrico, que también tiene lugar en la matriz mitocondrial.

En la tercera fase, las moléculas de NADH y FADH₂ que se han producido transfieren su energía a la molécula de ATP mediante la cadena respiratoria mitocondrial. El balance energético es de 147 moléculas de ATP para la oxidación de un ácido graso de 18 átomos de carbono. Para la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, la configuración de los dobles enlaces hace necesaria la colaboración de una sexta enzima: la 2,4-dienoil-CoA reductasa, para cuya actividad se consume una molécula de NADPH por cada doble enlace. Sin embargo los

ácidos grasos saturados tan sólo necesitan la acil-CoA deshidrogenasa, enoil-CoA hidratasa, β -hidroxiacil-CoA deshidrogenasa y acil-CoA acetiltransferasa para ser oxidados en la mitocondria hasta acetil-CoA.

Aunque las mitocondrias son el lugar donde preferentemente se oxidan los ácidos grasos en nuestras células, existen otros orgánulos en el citoplasma, como son los peroxisomas, que también contienen enzimas capaces de oxidar los ácidos grasos hasta acetil-CoA.

Las moléculas de acetil-CoA procedentes de la oxidación de los ácidos grasos en el hígado también pueden transformarse en los llamados cuerpos cetónicos: acetoacetato, β -hidroxibutirato y acetona. Constituyen una fuente adicional de energía procedente del hígado para las células extrahepáticas.

3.2.3 Biosíntesis de los ácidos grasos

Los ácidos grasos se sintetizan en el citoplasma de las células, de manera que así se mantiene separados los procesos biosintéticos de los degradativos. En la biosíntesis de los ácidos grasos, la acetil-CoA carboxilasa que transforma acetil-CoA en malonil-CoA es la enzima limitante y su actividad se regula

mediante distintos metabolitos y hormonas. El malonil-CoA es el sustrato de la ácido graso sintetasa, la cual representa una de las estructuras polipeptídicas multifuncionales más complejas que se conocen, puesto que (en un solo polipéptido) contiene todos los componentes catalíticos necesarios para la dirección secuencial de hasta 37 reacciones distintas. Este ejemplo multienzimático detiene su producción cuando el ácido graso formado es de 16 átomos de carbono [ácido palmítico (16:0)], aunque las células requieren ácidos grasos de cadena más larga e insaturados. Esto implica la participación del ácido palmítico en diversas rutas metabólicas de elongación y desaturación.

La elongación del ácido palmítico tiene lugar en el retículo endoplásmico liso y en las mitocondrias. Las enzimas que participan, ácido graso elongasas, difieren en términos de especificidad por el sustrato y son totalmente independientes del complejo multienzimático de la ácido graso sintetasa. En el retículo endoplásmico, el proceso consiste en la adición de los 2 átomos de carbono de una molécula de malonil-CoA al extremo carboxilo final del ácido graso “activado” como palmitoil-CoA. Pueden aumentar de tamaño tanto ácidos grasos saturados como insaturados, pero las elongasas prefieren como sustrato a los ácidos grasos insaturados. El sistema de elongación en las

mitocondrias utiliza el acetil-CoA (y no el malonil-CoA) como donador de átomos de carbono; es cuantitativamente menos importante que la elongación en el retículo endoplásmico, y suele funcionar solo cuando el potencial reductor intramitocondrial es alto (p.e., anoxia). En principio, las elongasas tienen un mecanismo de acción similar al de la ácido graso sintetasa pero, a diferencia de ésta, son capaces de utilizar ácidos grasos de cadena larga (acil-CoA) en lugar de malonil-CoA. Las reacciones son: condensación del donador de átomos de carbono con el acil-CoA para producir β -cetoacil-CoA (por la β -cetoacil-CoA sintasa), reducción de este compuesto hasta β -hidroxiacil-CoA (por la β -cetoacil-CoA deshidratasa) y reducción final (por la enoil-CoA reductasa) hasta producir el ácido graso elongado.

Desaturar significa la adición de un doble enlace a una molécula de ácido graso. En el retículo endoplásmico liso, la desaturación se cataliza por las acil-CoA desaturasas y consiste en una reacción en la que dos sustratos (el ácido graso correspondiente como acil-CoA y NADPH) se oxidan por una molécula de oxígeno; además participan el citocromo b₅ y la citocromo b₅ reductasa. El sistema se conoce como "oxidasa de función mixta", pues lo que ocurre realmente es la oxidación simultánea de dos sustratos distintos.

El ácido palmítico y el ácido esteárico son los precursores de los ácidos grasos monoinsaturados mayoritarios en nuestras células: el ácido palmitoleico (16:1 n-7) y el ácido oleico (18:1 n-9). Cuando ambos ácidos grasos se desaturan, se introduce un doble enlace en el carbono 9, por lo que esta desaturasa se conoce como Δ^9 -desaturasa. Mediante reacciones de elongación y desaturación, es posible sintetizar diversos ácidos grasos.

Sin embargo, nuestras células no tienen la desaturasa capaces de introducir un doble enlace en los átomos de carbono 12 (Δ^{12} -desaturasa) y 15 (Δ^{15} -desaturasa) de los ácidos grasos; por lo tanto no pueden sintetizar el ácido linoleico (18:2 ω -6) ni el ácido linolénico (18:3 ω -3), respectivamente. Estos ácidos grasos se consideran esenciales. Se incorporan a nuestro metabolismo mediante la ingesta de alimentos que los contienen (fundamentalmente de origen vegetal: las plantas si poseen las desaturasa necesarias, la Δ^{12} -desaturasa y la Δ^{15} -desaturasa).

Los ácidos grasos esenciales se usan para la síntesis de otros ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, de los cuales el ácido araquidónico (20:4 ω -6) es el más abundante. Intervienen elongasas y diversas desaturasa. El ácido linoleico es

el precursor de los ácidos grasos de la familia ω -6 (ácido araquidónico AA) y el ácido linolénico es el precursor de los ácidos grasos de la familia ω -3 [(ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA)]. La conversión de los ácidos grasos esenciales en sus derivados permite que éstos se incorporen rápidamente en los fosfolípidos formando parte de las membranas.

3.3. FUENTES DE ÁCIDOS GRASOS

Considerados en su conjunto, los ácidos grasos saturados (AGS) abundan en los animales terrestres, especialmente en los mamíferos, así como en dos aceites de procedencia vegetal: los de coco y de palma.

Los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), en particular el ácido oleico, caracteriza de modo especial al aceite de oliva y en menor proporción al aceite de colza. En la actualidad existen en el mercado aceites procedentes de semillas como el girasol y el cártamo que se han enriquecido en ácido oleico en detrimento del ácido linoleico, que es su componente mayoritario natural.

Entre los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), el más abundante es el ácido linoleico (18:2 ω -6). Éste se encuentra sobretodo en los aceites de semillas: girasol, maíz, cártamo, germen de trigo, pepita de uva y cacahuete. En el mundo vegetal, a excepción de los aceites de coco y de palma, predominan los ácidos grasos insaturados. En cuanto a los ácidos grasos de la serie ω -3, el primero de la serie, el α -linolénico (18:3 ω -3), se encuentra en cantidades pequeñas, aunque suficientes desde el punto de vista de los requerimientos nutricionales, en los aceites de colza y soja. Los demás ácidos grasos de la serie, importantes desde el punto de vista nutricional, son los ácidos eicosapentaenoico (20:5 ω -3) y el docosahexaenoico (22:6 ω -3) que se encuentran en los animales acuáticos. Se sabe que el grado de insaturación y la longitud de la cadena aumenta conforme lo hace la salinidad y la frialdad del agua.

3.4 FUNCIONES DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Las grasas tienen un papel fundamental en la nutrición de la infancia actuando como:

1. Grasa estructural en la composición de la membrana

2. Fuente de energía suministrada durante un periodo de la vida en que el crecimiento y el desarrollo son de una particular importancia

3. Como transportadores de las vitaminas liposolubles

4. Fuente de ácidos grasos esenciales: estos actúan como una grasa estructural, formando parte de las membranas celulares, cuya integridad depende de la composición y del contenido total de AGPI-CL de los fosfolípidos de las membranas. Estos AGPI-CL actúan como reguladores-moduladores de la permeabilidad y fluidez de las membranas (Murphy, 1990). Un aporte sustancial de AGPI-CL, particularmente DHA y una apropiada proporción entre los ácidos grasos n-6 y n-3 son necesarios para las funciones sinápticas y para el desarrollo del cerebro y la retina (Ballabriga, 1994) como vamos a ver a continuación.

3.4.1 Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y desarrollo cerebral

El desarrollo del sistema nervioso es un proceso dinámico que se inicia en las primeras semanas de la gestación y que se prolonga después del nacimiento con la adquisición de las diferentes funciones cerebrales. Este proceso está dirigido por un

conjunto de factores cuyas influencias se interrelacionan a lo largo del desarrollo: factores genéticos y factores ambientales. Dentro de estos últimos se encuentran los lípidos de la dieta, teniendo en cuenta por un lado, que la dieta influye en la composición de las membranas celulares y por otro lado, que el cerebro es el órgano con un mayor contenido graso, después del tejido adiposo, con un 50% del mismo en forma de lípidos de las membranas celulares (Sastry, 1985).

Las membranas celulares del sistema nervioso son ricas en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), sobretudo en ácido araquidónico (AA, 20:4 ω 6) y ácido docohexaenoico (DHA, 22:6 ω 3). (Salem, 1988). Los precursores de estos son respectivamente los ácidos grasos linoleico y linolénico, que deben ser aportados por la dieta.

El sistema nervioso necesita un aporte adecuado de estos lípidos durante las etapas de multiplicación y diferenciación celular (Bourre, 1990), así como durante el periodo de rápido crecimiento cerebral.

Caldwell y Churchill en 1966 demostraron que ratas alimentadas con dietas carentes de grasas mostraban una menor

capacidad de aprendizaje (Cadwell, 1996). Dicho efecto fue posteriormente asociado a una ausencia selectiva de ácidos grasos poliinsaturados, de manera que roedores alimentados con una dieta pobre en los mismos obtenían peores resultados en las pruebas de aprendizaje espacial y memoria (Lamprey, 1976; Coscina, 1986; Greenwood, 1990). Estudios realizados por Kameyama et al. en 1996, mostraron una menor capacidad de aprendizaje de los ratones alimentados con dietas deficientes en ω -3 y una mejor respuesta en los alimentados con dietas ricas en dichos ácidos grasos (Kameyama, 1996). La reversión de estos efectos se ha conseguido con el aporte de un suplemento de un aceite rico en ω -3 (Okaniwa, 1996; Redondo, 2002).

Los estudios sobre los factores influyentes en las funciones cerebrales superiores en humanos, presentan una dificultad importante como es la de discriminar entre los efectos atribuibles exclusivamente a los alimentos y los efectos atribuibles a factores genéticos o ambientales, que también influyen en el desarrollo cerebral. Existe otra limitación, derivada del hecho de que las funciones cognitivas valorables en los lactantes no son fácilmente correlacionables con las funciones superiores medidas en niños o adultos. Actualmente los estudios randomizados y el progresivo perfeccionamiento de los test de

desarrollo psicomotor han permitido superar en parte estas limitaciones.

La escala de Bayley y el test de Brunet–Lezine son pruebas que valoran globalmente las funciones superiores y el desarrollo psicomotor en lactantes y niños. En recién nacidos a término (RNAT) lactados al pecho o que recibieron fórmulas suplementadas con DHA, el test de Brunet–Lezine mostró mejores resultados a los 4 y 24 meses de vida (Agostoni, 1995), respecto a los que recibieron fórmulas sin DHA, sin embargo estas diferencias desaparecieron al realizar de nuevo el test a los 12 y 24 meses (Agostoni, 1997). Las diferencias bioquímicas encontradas en la sangre de los tres grupos, parecen demostrar que, a medida que transcurren los meses, otros factores ambientales a parte de la dieta influyen de forma progresiva en el desarrollo de las funciones superiores. Otros estudios por el contrario no encontraron diferencias en recién nacidos alimentados al pecho o con fórmula sin DHA o AA en pruebas visuales o de neurodesarrollo (Auestad, 1997; Nelson, 1995). La suplementación con DHA en recién nacidos pretérminos (RNPT) parece mejorar el procesamiento de la información, pero no afecta a la memoria visual según los resultados obtenidos en el test de Fagan a los 6, 9 y 12 meses (Carlson, 1996).

En prematuros que recibieron fórmulas con DHA y EPA, la valoración del desarrollo mental con la escala de Baley (MDI) fue similar con respecto al grupo control, pero resultó peor en el test de desarrollo psicomotor (PDI) (Carlson, 1994). Los resultados de este estudio no son concluyentes porque las diferencias encontradas parecen explicarse, más bien, por el retraso del crecimiento causado por el descenso de los niveles de AA, consecutivo a una sobrecarga de EPA. En un segundo trabajo los mismos autores, utilizando fórmulas suplementadas sólo con DHA, concluyeron que el grupo de pretérminos suplementados presentó mejores valores en el MDI y similares en el PDI respecto al grupo no suplementado (Carlson b, 1996).

En la valoración de otras funciones superiores se han encontrado resultados no concluyentes. En este sentido, mediante pruebas que valoran la adquisición del lenguaje a los 15 meses, los RNAT suplementados sólo con DHA presentan peores resultados que los lactados al pecho, y sin embargo, en términos suplementados con DHA y AA, no se observan diferencias con los lactados al pecho (Janowsky, 1995). Otros trabajos con niños de 14 meses han encontrado una relación inversa entre los resultados de un test de lenguaje y de un test

de memoria, de modo que los lactantes que mejor puntúan para un test son los que peor puntúan para el otro (Schwade, 1996).

A largo plazo no existen datos concluyentes sobre la repercusión de las alteraciones cognitivas atribuibles a estos cambios dietéticos. En estudios no randomizados realizados en niños de 8 años nacidos prematuramente y que recibieron fórmulas lácteas, se obtuvieron puntuaciones más bajas en pruebas de inteligencia comparados con los que recibieron leche materna (Lucas, 1992). Niños que de lactantes habían recibido fórmula, tuvieron peores puntuaciones en pruebas de inteligencia global a los 8 y 15 años (Rodgers, 1978). Sin embargo al ser estudios no randomizados, las diferencias encontradas podrían deberse a otros factores diferentes al contenido en AGPI-CL en la dieta (Horwood, 1998).

Aunque se ha demostrado cierta plasticidad en la composición de los ácidos grasos en el cerebro durante el periodo de desarrollo, a largo plazo los efectos específicos de un suplemento de ácidos grasos ω -3 y / o ω -6, sobre la capacidad de aprendizaje, no están muy claros, ya que las alteraciones observadas pueden ser debidas a otros factores, como la capacidad motora, visual o sensorial, que en muchas ocasiones

no han sido correctamente analizadas (Neuringer, 1994; Wainwright, 1991).

Un correcto balance AA y DHA en la ingesta parece ser pues un factor crítico para un desarrollo psicomotor global adecuado en los lactantes. La valoración de funciones cognitivas concretas puede no ser representativa de otras funciones cerebrales o del conjunto de las funciones superiores, de modo que las consecuencias a largo plazo de los déficits parciales descritos, no permiten establecer con claridad la influencia de la incorporación de los AGPI-CL en la dieta de los lactantes. Los factores ambientales diferentes a la nutrición, también influyen de forma relevante en el grado de desarrollo cerebral y por tanto, la posibilidad de que estos factores sean capaces de compensar los efectos atribuibles a una deficiencia en AGPI-CL, puede ser una hipótesis a considerar (García-Fuentes, 2003).

3.4.2 Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y agudeza visual

La retina es el tejido del organismo con mayor contenido en DHA. Este ácido graso se encuentra formando parte de los fosfolípidos de la membrana de las células fotorreceptoras

confiriéndole unas características biofísicas especiales para la función visual. Al igual que en el cerebro, la composición lipídica de la retina puede verse afectada por las variaciones en la dieta, pudiendo alterarse de esta manera la función visual. Los estudios de Benolken et al. (Benolken, 1973), demostraron en ratas alimentadas con dietas sin grasa que una disminución del contenido en DHA en retina se asociaba con alteraciones en la función de la retina. Posteriormente en ratas, cobayas y felinos sometidos a una alimentación deficiente en ácido alfa-linolénico durante el periodo gestacional, se ha demostrado un descenso en el contenido cerebral de DHA y alteraciones en la agudeza visual y en el electroretinograma de la progenie (Pawlosky, 1997; Neuringer, 1994; Weisinger, 1996). En estos animales también se ha descrito la persistencia de estas alteraciones a los 3-4 meses de edad, pero no en la edad adulta (Connor, 1992; Wainwright, 1991).

Los datos experimentales anteriores aportaron una base científica suficiente para plantear la hipótesis de que los recién nacidos alimentados con fórmulas deficientes en DHA podrían presentar alteraciones visuales respecto a los alimentados al pecho. En los últimos años múltiples estudios han investigado esta hipótesis a través de la valoración de la función de los

bastones, mediante electroretinografía (ERG) o mediante otras técnicas que valoran, la vía óptica a partir de los conos. Entre estas últimas se incluyen los potenciales evocados visuales (PEV) que valoran la integridad de la vía óptica desde la retina a la corteza visual, y las técnicas conductuales, que analizan respuestas motoras desencadenadas a partir de estímulos visuales y que por tanto, además de valorar la vía óptica, valoran otras regiones cerebrales necesarias para establecer la respuesta motora asociada.

Los estudios ERG en pretérminos que recibieron fórmulas deficientes en α -linolénico han demostrado un retraso en la maduración de los bastones respecto a los lactados al pecho o con suplementos de DHA, desapareciendo estas diferencias a los 5 meses de vida (Uauy, 1990). En cambio, en recién nacidos a término, la suplementación con DHA no ha demostrado alteraciones en la función visual medida mediante esta técnica (Neuringer, 1995).

La realización de PEV y valoración visual mediante métodos conductuales en pretérminos, que habían recibido fórmulas suplementadas con aceites de pescado ricos en DHA, demostró una agudeza visual mejor que en los que no habían

sido suplementados, persistiendo estas diferencias hasta los 4 meses (Birch, 1992). En otro estudio semejante que utilizó técnicas conductuales, las diferencias halladas desaparecieron a partir de los 4 meses (Carlson, 1993). En recién nacidos a término, los estudios no randomizados que comparan lactados con fórmula y al pecho no son concluyentes, ya que algunos demuestran peor agudeza visual a los 4 meses en lactados con fórmula (Makrides, 1993), y otros no demostraron diferencias en la agudeza visual a esa misma edad (Jorgensen, 1996).

Hay pocos estudios que valoren a largo plazo la repercusión de la dieta de los recién nacidos sobre la función visual. En un estudio no randomizado, la valoración de la agudeza visual en niños de 3 años, no demostró diferencias entre los que fueron lactados al pecho o mediante fórmula. Sin embargo se observaron mejores resultados en lactados al pecho al valorar parámetros de visión más complejos, como la agudeza visual espacial o la agudeza visual de reconocimiento (Birch, 1993). En estudios randomizados donde se valora exclusivamente el efecto de la suplementación con AGPI-CL, tampoco existen datos absolutamente concluyentes en recién nacidos a término, existiendo trabajos que demuestran mejor agudeza visual en suplementados con AGPI-CL a los 4 y 8 meses

(Makrides, 1995), otros que sólo demuestran mejores resultados a los 2 meses pero no posteriormente (Carlson, 1996), e incluso algunos autores, no han encontrado diferencias en la agudeza visual en lactantes nacidos a término alimentados con y sin AGPI-CL durante los primeros 9 meses de vida (Innis, 1996) e incluso durante los 12 primeros meses (Auestad, 1997).

En resumen, de los datos existentes hasta la fecha, podría inferirse que los AGPI-CL presentes en la alimentación de los recién nacidos, podrían comportarse como un factor acelerador de la maduración visual en el RNPT, en concreto el DHA de las fórmulas lácteas mejora la función retiniana y la agudeza visual en los primeros meses. En el RNAT, sin embargo su posible efecto beneficioso es mucho más controvertido, debido a la diversidad de los hallazgos encontrados en los estudios, siendo por ello necesario nuevos trabajos metodológicamente más cuidados que corrijan los inconvenientes de estudios previos y que valoren la importancia, a largo plazo, de los déficits visuales transitorios de las primeras etapas de la vida, conociendo otros antecedentes del daño a largo plazo de déficits visuales limitados en el tiempo tanto en humanos (Awaya, 1979) como en primates (Hendrickson, 1987).

3.4.3 *Fórmulas infantiles y AGPI-CL*

Hasta finales de los años 70 no comenzaron a surgir las primeras recomendaciones de organismos como la ESPGHAN o el Comité de Nutrición de la Academia Americana de Pediatría respecto a las cantidades de ácidos grasos esenciales que debían contener las fórmulas infantiles. Desde entonces ha habido sucesivas modificaciones, tratando por lo general de adaptar la composición de las fórmulas a la leche humana (Koletzko, 1992a).

En Europa todas las leches de fórmula para prematuros y algunas para recién nacidos a término, incorporan DHA y AA, siguiendo las recomendaciones del Comité Científico de la Alimentación de la Unión Europea. Estas recomendaciones sobre preparados para leches se resumen en tres puntos:

1. El contenido en α -linolénico no será inferior a 12 mg/100g (50 mg/100 Kcal)
2. La proporción entre los ácidos linoleico y α -linolénico no será inferior a 5 ni superior a 15.
3. Podrán incorporarse ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. En tal caso para los AGPI-CL ω -3, su contenido no será superior a 1% del contenido total de materia grasa, y para los

AGPI-CL ω -6, su contenido no será superior al 2% del contenido total en materia grasa (1% del contenido total de materia grasa para el AA).

La lactancia materna, que aporta AGPI-CL, es el método más recomendable y preferible para la alimentación del recién nacido. Siguiendo las recomendaciones del grupo de expertos en AGPI-CL, reunidos en julio del año 2000 (Koletzko, 2001a), las fórmulas infantiles para recién nacidos a término, debieran contener DHA, al menos 0,2% del total de los ácidos grasos, y de AA el 0,35%. Respecto a las fórmulas para prematuros la cantidad de DHA sería al menos 0,35% y de 0,4% de AA.

3.5. Metabolismo de AGPI durante la lactancia

Los AGPI-CL en la leche humana pueden provenir de la ingesta de la dieta materna (pescado, hígado, huevos, carne), de las reservas maternas o de la síntesis endógena a partir de precursores de 18-átomos de carbono en el hígado, glándula mamaria u otros tejidos. Células epiteliales de la mama en cultivo contienen las enzimas necesarias para la síntesis de AGPI-CL; pero no se sabe si se pueden sintetizar "in vivo" por la glándula mamaria y, si es así, cuanto contribuiría al pool total de AGPI-CL de la leche.

Los AGPI procedentes de la dieta son absorbidos y reesterificados en triacilglicéridos, pasando a la circulación en forma de quilomicrones que son rápidamente transferidos a la leche materna. Durante periodos de ayuno, los triacilglicéridos son transportados desde el hígado como VLDL a la glándula mamaria y allí son liberados por la acción de una lipoproteinlipasa. Durante la lactancia, la actividad de la lipoproteinlipasa disminuye en el tejido adiposo y aumenta significativamente en el tejido mamario. (Rogers, 1996; Rebuffé, 1985), indicando un aumento de la utilización de ácidos grasos en este tejido. Los ácidos grasos del tejido adiposo pueden ser transportados como ácidos grasos libres (sin esterificar) unidos a la albúmina, a las células alveolares de la mama (Hachey, 1987).

Aunque varios estudios indican un efecto de la dieta en el contenido en ácidos grasos de la leche humana, hay indicios de que las cantidades de AGPI-CL en la leche humana están reguladas metabólicamente. (Koletzko, 1992b; Henderson, 1992; Cherian, 1996), es decir que la transferencia del AGPI-CL desde la dieta a la leche materna seguiría un mecanismo selectivo. Por ejemplo, la leche de mujeres de áreas rurales de África tienen valores de n-6 AGPI-CL ligeramente superiores a los encontrados en mujeres europeas (Koletzko, 1991a; Van Der Westhuyzen,

1988), aunque estas mujeres africanas tienen un consumo limitado de grasas, totales y animales, que aportan n-6 AGPI-CL preformados. También mujeres vegetarianas tienen valores de 20:3n-6 y AA en leche, similares o ligeramente superiores a aquellas con una alimentación omnívora (Sanders, 1978), aunque la ingesta de 20:3n-6 y AA preformados es claramente inferior en las vegetarianas (Finley, 1985). Esta teoría es controvertida, así otros estudios como el de Fidler et al., realizado mediante suplementación de DHA marcado con isótopos, prueban que no existe una transferencia selectiva o preferencial de DHA desde la dieta a la leche humana, comparado con los ácidos palmítico y oleico (Fidler, 2000). En el mismo sentido se manifiesta Makrides et al. (Makrides, 1996)

Parece que la secreción de n-6 AGPI-CL en la leche humana no sólo depende de la dieta materna, sino que también procede de las reservas maternas y de la síntesis endógena.

Por el contrario con lo que ocurre con los n-6 AGPI-CL, los niveles de DHA en leche materna de mujeres vegetarianas, con dietas exentas en este ácido graso, son de 2 a 4 veces menores que en mujeres con una alimentación omnívora..

Koletzko et al. no han encontrado relación significativa entre los niveles de los ácidos grasos esenciales LA y ALA y sus respectivos metabolitos de cadena larga AA y DHA, respectivamente en la leche humana madura (Koletzko, 1988), pero si encuentran un relación estrecha entre las cantidades de n-6 y n-3 AGPI-CL. Estos datos sugieren que ambas series de ácidos grasos pueden compartir vías comunes para la síntesis y secreción a la leche y pueden ayudar a mantener el índice n-6/n-3 relativamente constante. Este hecho puede ser ventajoso para el bebé, no sólo porque ambas clases de ácidos grasos tienen un papel en el mantenimiento de la integridad de la membrana celular, sino también, porque los AGPI-CL de las dos series actúan como precursores de la síntesis de diferentes eicosanoides con diversos efectos biológicos (Koletzko, 1992d; Simopoulos, 1991).

4. VITAMINA A

A principios de este siglo, en 1909, Strepp descubrió la existencia de una sustancia liposoluble en la yema del huevo, esencial para la vida. McCollum y Davis (McCollum, 1957) y Osborne y Mendel (Osborne, 1913) contribuyeron a establecer el hecho de que uno de los elementos nutritivos esenciales que faltaban en las dietas purificadas era soluble en las grasas. En

1919 Steenbock (Steenbock, 1919) encontró que los boniatos amarillos y las zanahorias sostenían el crecimiento normal y proporcionaban inclusive una cantidad suficiente de la sustancia desconocida, para la reproducción. Este elemento nutritivo se asoció al color amarillo. Diez años después, científicos alemanes e ingleses demostraron que el caroteno cristalino tenía valor de vitamina A.

4.1. Definición

Vitamina A es un término genérico que designa aquellos compuestos con estructura “ β -ione” que presentan la actividad biológica del retinol. En la dieta, la vitamina A se encuentra solo en productos animales, principalmente en hígado, huevos y leche. Las formas precursoras de la vitamina A son los carotenoides que tienen actividad biológica de vitamina A después de convertirse en retinol en el intestino; los más importantes son: β -caroteno, α -caroteno y criptoxantina. Estos están presentes principalmente en vegetales verdes y amarillos y en la fruta (Gerster, 1997).

La actividad de la vitamina A se expresa en unidades de peso: Equivalentes de retinol (RE). $1\mu\text{g}$ de RE corresponde con $1\mu\text{g}$ de retinol. Antiguamente se definía en Unidades

Internacionales (UI) que corresponden a 0.3 µg de retinol (Gerster, 1997).

Todos los compuestos relacionados estructuralmente con la vitamina A se llaman retinoides y se incluyen todas las formas naturales de la vitamina A y los compuestos naturales y sintéticos que pueden tener o no actividades biológicas de vitamina A. Los carotenoides no están incluidos dentro de los retinoides (Gerster, 1997).

TABLA III.- COMPUESTOS CON ACTIVIDAD VITAMINA A Y SUS RELACIONADOS

Equivalencia de los compuestos Vitamina A

	1 µg retinol (3.33 IU)
1 µg RE	6 µg beta-caroteno 12 µg otros carotenoides provitamina A
1 µg retinol	1 µg RE
1 µg beta-caroteno	0.167 µg RE
1 µg otras provitaminas A	0.084 µg RE

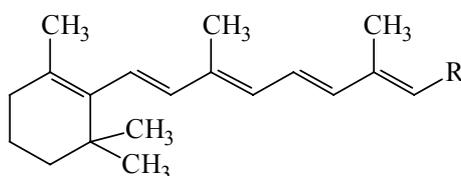
RE: equivalentes de retinol

4.2. Estructura

Las sustancias con características de vitamina A son los compuestos derivados de los carotenos que muestran actividad biológica del denominado "todo trans-retinol". Su estructura química quedó definida en 1931 por Karrer (Thiers, 1956) y fue Isler quien formuló su síntesis en 1947 (Isler, 1970). El término de vitamina A abarca una serie de sustancias esenciales para la visión, el crecimiento, la diferenciación y proliferación celular, la reproducción y la integridad del sistema inmunológico (Goodman, 1984; Olson, 1984; Sporn, 1984).

La vitamina A es un alcohol de cadena larga que se encuentra principalmente en forma de ésteres de ácidos grasos (Figura 4). Es insoluble en agua y soluble en éter, cloroformo, acetona, grasas y aceites. Se degrada rápidamente por acción de la luz, el oxígeno y los ácidos.

Figura 4. Fórmula de la vitamina A:



<i>Compuesto</i>	<i>R</i>
Retinol	CHOH
Retinal	CHO
Acido Retinoico	COOH

La vitamina A es activa en numerosas formas químicas distintas, tales como aldehído (retinal), alcohol (retinol) y ácido (ácido retinoico) (Stryer, 1985).

4.3. Funciones fisiológicas

La vitamina A ejerce su función a través de los metabolitos del retinol. El primer metabolito, retinal, constituye el heme del pigmento visual, la rodopsina, cuya estimulación por la luz activa la cascada que finaliza con una señal a las neuronas del nervio óptico (Saari, 1994). El segundo metabolito, ácido retinoico, es una hormona liposoluble que controla la transcripción genética a través de receptor. Un tercer metabolito del retinol, el 14-hidroxi-4,14-retro retinol, ha sido descrito como posible molécula activa en el sistema inmunitario, pero su mecanismo de acción es desconocido (Buck, 1991). Los diferentes modos de respuesta del sistema inmunitario son afectados por la vitamina A (Ross, 1992).

La vitamina A juega un papel fundamental en la función visual, así como en otros procesos fisiológicos como son el mantenimiento del tejido epitelial, el crecimiento, la reproducción y la inmunidad. Su influencia es particularmente importante en periodos de rápida proliferación y diferenciación celular, tales como la gestación (desarrollo embriológico) y la infancia temprana.

Dentro de las distintas formas de vitamina A parece ser que el ácido retinoico sólo participa en el mantenimiento de un crecimiento normal y la diferenciación de los tejidos (Blaner, 1994). Se ha visto, que animales tratados con ácido retinoico, como única fuente de vitamina A, sufren pérdida de visión nocturna y se convierten en estériles. Además el ácido retinoico no puede ser almacenado en el hígado al carecer del grupo hidroxilo necesario para unirse a los ácidos grasos. El retinol, el retinal y los esteres de retinol son convertibles entre sí. Estas tres formas se pueden convertir en ácido retinoico, pero el ácido retinoico no puede reducirse a retinal.

4.3.1. Diferenciación celular

Se ha visto que el ácido retinoico juega un papel importante en la morfogénesis donde es necesario en cantidades

fisiológicas para la correcta formación de los miembros en las fases tempranas de la embriogénesis (Eichele, 1992).

En ausencia de vitamina A, las células basales tienden a convertirse en células queratinizantes formando así un epitelio escamoso, que perjudica a distintos órganos (Rosenthal, 1994). A partir de las células basales se forman las distintas células del epitelio: las células secretoras de moco, que son blandas y húmedas, y las células queratinizantes que son escamosas y duras. En el sistema respiratorio la formación de células queratinizantes reduce la resistencia de la superficie a las infecciones; se pueden dar casos de neumonía e incluso puede producirse la muerte por esta deficiencia. También puede afectar a la visión; la cornea puede cicatrizar, la conjuntiva sufre pigmentación y endurecimiento; puede llegar a producirse xeroftalmia y finalmente ceguera como resultado de los cambios en la diferenciación celular en la superficie del epitelio (Gerster, 1997). Las células epiteliales de la glándula olfatoria se pueden queratinizar perdiendo así olfato. En el intestino sucede lo mismo, disminuyendo la resistencia a organismos patógenos (Brody, 1994).

Diferentes estudios tanto in “vivo” como “in vitro” han demostrado el papel fundamental de la vitamina A en el desarrollo embriológico, de modo que su déficit conlleva graves anormalidades o la muerte de embrión (Maija, 2001).

La vitamina A induce diferenciación de los precursores celulares en cardiomiocitos (Kubalak, 1999). Estudios en embriones de codorniz han demostrado que su déficit o ausencia produce malformaciones cardíacas (Zile, 1998; Ross, 2000; Zile, 1999).

Juega un papel importante en el desarrollo del SNC (Ross, 2000; Maden, 1999; Clagett, 1997), produciendo su déficit anormalidades en el desarrollo del sistema visual y la retina, en el oído interno y en el desarrollo craneofacial y del cordón espinal (Ross, 2000). Se ha propuesto como mecanismo patogénico el incremento de la apoptosis de las células migratorias de la cresta neural, debido a la falta de la vitamina A (Maden, 1999).

Igualmente la vitamina A juega un papel importante en el desarrollo del pulmón (Zachman. 2000) y del sistema renal y urogenital (Ross, 2000).

Aún hoy en día no se conoce bien el mecanismo preciso por el que la vitamina A induce la diferenciación celular. Chytil y Ong (Chytil, 1979) han sugerido que es el ácido retinoico, derivado del retinal el que se une a uno de sus receptores nucleares (RARs o RXRs) que regula la expresión genética por interacción de “retinoic acid responsive elements” (RARE), que se encuentran próximos a los genes diana y esto induce una cascada de eventos reguladores a través de la activación de genes específicos “networks”. Tanto RARs como RXRs pertenecen a una superfamilia de proteínas de regulación hormonal que incluyen a las que regulan esteroides, hormonas tiroideas y la 1,25-dihidroxitamina D₃.

4.3.2. Efectos hormonales

Después de entrar en la célula tanto el retinol como el ácido retinoico es unido a distintas proteínas citoplasmáticas. Parece ser que estas proteínas son usadas para el transporte de la vitamina dentro de los distintos compartimentos de la célula. En el núcleo hay otras proteínas que también se unen a la vitamina. Estas son usadas para el control genético, y es aquí donde la vitamina asegura la función hormonal. El complejo proteína-vitamina se une a regiones específicas de la cromatina y provoca así cambios en la transcripción de determinados genes

(Brody, 1994). Esta situación es análoga a la de las hormonas esteroides, vitamina D y hormona tiroidea, donde el complejo hormona-proteína receptora se une a regiones específicas de la cromatina y regula la expresión genética. Se han descubierto seis tipos distintos de proteínas de unión al ácido retinoico en el núcleo.

La vitamina A puede provocar cambios en el metabolismo independientemente de la regulación genética. Estos cambios parecen estar involucrados en la formación de glicoproteínas (Brody, 1994)

4.3.3. Actuación en la visión

La vitamina A participa muy activamente en el proceso de la visión nocturna. La forma 11-cis-retinal se une covalentemente a la opsina (una proteína de 38000 daltons de peso molecular) mediante la formación de una base de Schiff entre el grupo ϵ -amino de un resto de lisina y el grupo aldehído del retinal, formándose así la rodopsina. La luz induce la conversión del 11-cis-retinal en todo-trans-retinal, fenómeno que se conoce como "blanqueamiento" de la rodopsina, se disocia esta iniciando el ciclo en la fase oscura. El todo-trans-retinal se transforma en todo-trans-retinol y a través de distintas

enzimas se transforma de nuevo en 11-cis-retinal capaz de unirse a la opsina, y comenzar de nuevo el ciclo (Herrera, 1989; Gerster, 1997). Esto sucede en unas estructuras del ojo llamadas bastones, encargadas de la visión nocturna.

4.4. Ingesta dietética de vitamina A

Son muchos los factores que influyen en la captación de vitamina A y carotenoides de la dieta: la cantidad de retinol circulante en plasma, cantidad de retinol almacenada en hígado, la composición grasa de la dieta, la cantidad de vitamina presente en los alimentos y la preparación de los mismos. Todo esto produce grandes variaciones y diferencias interindividuales que dificultan la obtención de datos fiables sobre la ingesta de vitamina A (Maisey, 1995). A esto hay que sumar que son pocas las personas que consumen hígado, el alimento más rico en vitamina A y además lo consumen con irregularidad. La ingesta de carotenoides puede variar con las estaciones del año, debido a la estacionalidad de las frutas y verduras (Basu, 1994).

En un estudio realizado en Alemania occidental (Nationale Verzehrsstudie, NVS), con 20.000 participantes (Gerster, 1997), se calculó la ingesta media diaria de vitamina A en 950 μg RE

(850 μg RE en mujeres y 1010 μg RE en hombres), un 70% en forma de retinol y un 30% en forma de carotenoides provitamina A. Se vio que los niños ingerían un 15–20% de los carotenoides en forma de bebidas refrescantes "soft drinks". La proporción de carotenos era mayor en mujeres que en hombres; y se producía una mayor ingesta a mayor edad y a mayor nivel socioeconómico.

En otro estudio "The Euronut SENECA Study" (Gerster, 1997), realizado en 18 ciudades de 12 países europeos, se observó una gran variabilidad en la ingesta de retinol y carotenoides en los distintos países de Europa, en personas mayores. En los países del norte era mayor el consumo de vitamina A que en los países del sur, sin embargo, sucedía lo contrario con los carotenoides, con un mayor consumo por los países del sur de Europa, en parte para compensar las menores ingestas de retinol (EURONUT SENECA INVESTIGATOR, 1991).

En un gran estudio dietético realizado en los Estados Unidos se confirman los datos obtenidos en Alemania que indican que el nivel socioeconómico influye en la consumición total de vitamina A (Gerster, 1997).

Dentro de los grupos de riesgo, con ingesta insuficiente de vitamina A se encuentran las mujeres jóvenes que siguen una dieta baja en calorías (Crawley, 1995). En el estudio realizado en Alemania (NVS), los jóvenes presentaban un alto riesgo de ingerir cantidades insuficientes de vitamina A, especialmente los hombres durante el invierno y la primavera (Heseker, 1991). Y en general, las personas con bajos ingresos, tienen un mayor riesgo de consumir bajas cantidades de vitamina A.

El feto comienza a acumular vitamina A durante el tercer trimestre de la gestación, y necesita varios meses con aportes suficientes de vitamina A para conseguir unas reservas hepáticas adecuadas. La composición de la leche materna está influida por el estado y las concentraciones séricas de la vitamina A de la madre durante el último trimestre de la gestación (Ortega, 1997). El calostro es muy rico en vitamina A, e incluso la leche de una mujer ligeramente desnutrida puede satisfacer las necesidades fisiológicas de vitamina A del neonato durante las primeras semanas (Humphry, 1992; West, 1989). Después de este tiempo, sin embargo, el rápido crecimiento del niño puede producir balance negativo de vitamina A.

4.4.1. Recomendaciones oficiales para la ingesta dietética de vitamina A (RDA).

A pesar de la cantidad de estudios realizados sobre vitamina A durante todos estos años, no existe un consenso internacional en los requerimientos nutricionales diarios de vitamina A "para mantener la salud prácticamente a todas las personas sanas de una población".

TABLA IV. RECOMENDACIONES DIETETICAS PARA LA INGESTA DE VITAMINA A (UI/d)

	Mujeres		Gestantes		Mujeres Lactantes		Niños	
	1	2	1	2	1	2	1	2
WHO/FAO (1994)	500	Bajo: 270 Alto: 10000	600	Bajo:450 Alto:10000	850	Bajo:450 Alto:10000	350	Bajo:180 Alto:50000
USA (1995)	900	*	900	8000	1350	*	375	*
UK (1996)	600	*	700	*	950	*	400	*
Francia (1997)	800	3000	900	3000	1300	3000	350	3000
UE (1998)	600	3000	700	#	950	*	400	1700

FAO/WHO Expert Consultation Group (Joint FAO/WHO Expert consultation, 1994); 1.Recomendaciones; 2. límites de seguridad

* No hay recomendaciones oficiales disponibles; # "mujeres gestantes con una dieta adecuada no debieran tomar suplementos de vitamina A excepto por prescripción médica". Para convertir UI a equivalentes de retinol debe multiplicarse por 0.3.

Tabla V. RDA de 2002 para la vitamina A, expresados como $\mu\text{g}/\text{día}$.

	Lactantes		Niños		Hombres		Mujeres		Gestantes		Mujeres lactantes	
Edad	0-6m	6-12m	1-3a	4-8a	9-13a	>13a	9-13a	>14a	≤18a	>19a	≤18a	>19a
vit. A	400	500	300	400	600	900	600	700	750	770	1200	1300

Vit.: vitamina, m: meses, a: años.

En la tabla IV quedan expresadas las distintas recomendaciones diarias de ingesta de vitamina A, según distintos países. El amplio rango de la ingesta diaria recomendada entre los distintos países viene a ilustrar, que las recomendaciones prácticas de ingesta de vitamina A, varían ampliamente según la disponibilidad de vitamina A, las características socioeconómicas de cada país y según el carácter endémico del estado inadecuado de vitamina A (Azaïs-Braesco, 2000).

4.4.2. *Determinación del estado nutricional de vitamina A*

El 90% de la vitamina A se encuentra en el hígado y la concentración hepática es el método de referencia. Hay deficiencia por debajo de 20 $\mu\text{g}/\text{g}$ de hígado. El retinol plasmático no es parámetro fiable de déficit de vitamina A. Una concentración

sérica de vitamina A menor de 10 µg/dl es sugestiva de carencia. El cociente vitamina A/RBP (Proteínas Transportadoras Retinol) puede ser indicador de deficiencias (Codoceo, 1991).

El test relativo dosis–respuesta se basa en el aumento de retinol plasmático después de una sobrecarga de vitamina A. La diferencia entre la concentración en ayunas y a las 5 horas, dividida por la concentración en ayunas, se denomina respuesta relativa a la dosis. Una respuesta mayor del 20% sugiere que la concentración de vitamina en el hígado es menor de 20 µg/g. En individuos bien nutridos, tras la administración de una pequeña cantidad de vitamina A por vía oral o intravenosa, se produce un ligero aumento, de corta duración, con vuelta a la concentración basal en 5 horas. (Fomon, 1995; Apgar 1996).

Según la necesidad de vitamina A el estado del organismo puede clasificarse en 4 clases (Serrano–Ríos, 2003):

1. Estado Satisfactorio

Implica la ausencia de signos clínicos, la posibilidad de llevar a cabo todas las funciones fisiológicas que dependan directamente o indirectamente de la vitamina A, y una reserva corporal de ésta suficiente para cubrir las necesidades en caso de

estrés o en periodos de menor ingesta nutricional. El contenido medio corporal de vitamina A suficiente para cubrir todas las funciones de dicha vitamina, y proporcionar una reserva de 3 meses durante un intervalo de ingesta baja es de 0,18 mmol y 0,14 mmol, respectivamente, para un varón sano de 76 kg y una mujer de 62 kg.

2. Estado Deficiente

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la deficiencia de vitamina A un problema de salud pública en aproximadamente 60 países, poniendo en riesgo la vida y la visión de 250 millones de niños en edad preescolar (Potter, 1997).

En los países subdesarrollados se ha visto que la ceguera infantil, se produce en una parte importante por la deficiencia de vitamina A. Algunos estudios han demostrado una correlación entre la ceguera y la aparición de infecciones respiratorias y gastrointestinales (Brody, 1994).

La deficiencia de vitamina A se presenta cuando se consume de manera crónica una dieta deficiente en vitamina A o durante una inanición prolongada. La enfermedad que provoca

esta deficiencia se conoce con el nombre de keratomalacia, se trata de un conjunto de síntomas, que en caso de afectar al órgano de la visión se conoce con el nombre de xeroftalmia. Las diferentes fases de esta enfermedad fueron definidas por la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization) (Who, 1982) El primer síntoma es una ceguera nocturna, esto va seguido de un daño en la córnea; la ceguera nocturna es reversible pero el daño producido en la córnea no. Se produce sequedad en la conjuntiva (xerosis) y unas manchas opacas blancas denominadas "manchas de Bitot". El daño irreversible producido en la córnea, el cristalino con la consecuente ceguera es parte de la xeroftalmia (Brody, 1994).

Se ha visto en animales que una deficiencia de vitamina A produce anorexia, falta de crecimiento, infecciones y xeroftalmia. A menudo la muerte se produce antes de presentarse la xeroftalmia, debido a las infecciones. La deficiencia de vitamina A afecta a la formación de anticuerpos, así como produce daño en el tejido epitelial que recubre el tracto respiratorio y gastrointestinal. Esto provoca la invasión de organismos patógenos (Brody, 1994).

3. Estado marginal

Es un estado más atenuado que el de la deficiencia, aunque se puede afirmar que es más frecuente que ésta.

4. Estado Tóxico o excesivo

El exceso de retinol causa cambios en las membranas biológicas cuando la cantidad de la ingesta excede de la capacidad de captación de la RBP. Existen 3 categorías de toxicidad:

a) Aguda: se produce por la toma, en un corto espacio de tiempo, de una o varias dosis de vitamina 100 o más veces superior a los aportes recomendados. Sus primeros signos consisten en náuseas, vómitos, cefaleas, vértigos, visión borrosa, incoordinación muscular, y en los lactantes, prominencias de las fontanelas. Estos signos suelen ser transitorios y desaparecen al cabo de pocos días. Cuando las dosis han sido muy altas, durante la segunda semana aparece una segunda fase caracterizada por somnolencia, mal estado general, inapetencia, inactividad física, prurito, descamación cutánea y vómitos de repetición.

b) Crónica: es mucho más frecuente que la anterior, se debe al ingesta repetida, a lo largo de semanas o años, de dosis

excesivas de vitamina A, superiores en general a 10 veces el aporte recomendado diario. Los signos de toxicidad consisten habitualmente en cefalea, alopecia, labios agrietados, piel seca y pruriginosa, hepatomegalia, dolores óseos y articulares y otros síntomas.

c) Teratogénica: los efectos teratogénicos más graves de la vitamina A consisten en reabsorción fetal, abortos, malformaciones congénitas e incapacidades permanentes para el aprendizaje.

Las personas sanas que consumen una dieta equilibrada no necesitan suplemento de vitamina A. No parece que los carotenoides de los alimentos sean tóxicos aunque sean ingeridos en grandes cantidades.

4.5. Metabolismo de la vitamina A

4.5.1. *Absorción*

Las formas precursoras de la vitamina A se encuentran en alimentos animales en forma de ésteres. Los ésteres de retinol de la dieta deben hidrolizarse antes de ser absorbidos, de esto se encarga una hidrolasa presente en el jugo pancreático o en las vellosidades de las células de cepillo de la

mucosa intestinal, la vitamina E favorece esta hidrólisis. Una vez en la mucosa del intestino delgado el retinol se esterifica con ácidos grasos de cadena larga, principalmente el ácido palmítico. Estos deben estar en su forma activa (palmitoil-CoA) y participan dos enzimas con actividad aciltransferasa: acil CoA-retinol aciltransferasa (ARAT) (Helgerud, 1982; 1983; Goodman, 1988) y lecitin-retinol aciltransferasa (LRAT) (Ong, 1988; MacDonald, 1988). MacDonald y Ong encontraron que el retinol unido a la CRBP (tipo II) (proteína citoplasmática transportadora de retinol) es esterificado por LRAT, mientras que el retinol libre situado en las membranas es esterificado por la ARAT. Blomhoff y col. (Blomhoff, 1991) sugieren que la LRAT esterifica al retinol durante la absorción de una ingesta normal de retinol, y la ARAT esterifica el exceso de retinol cuando se absorben grandes dosis y la CRBP tipo II se satura. Es por eso que la CRBP tipo II juega un papel muy importante en la absorción del retinol mediada por transportador.

Se ha detectado un "acid retinoic responsive element" (RARE) en el gen promotor de la CRBP tipo II (Mangelsdorf, 1991) que indica que la transcripción es regulada por el ácido retinoico a través de receptores nucleares. Así se cree que grandes dosis de retinol en la dieta pueden conducir a un aumento de ácido

retinoico en los enterocitos y un aumento en la expresión de CRBP tipo II.

TABLA VI.- VALORES MEDIOS DE LAS CONCENTRACIONES DE RETINOL EN SUERO O EN PLASMA EN DIFERENTES PAÍSES

<i>PAIS (ref.)¹</i>	<i>RETINOL (µg/ml)</i>	
	<i>MUJER</i>	<i>HOMBRE</i>
Francia ^b 442H/552M, 6-97 a	0.53	0.48
Japón ^c 65H/60M, 22-86 a	0.49	0.43
Japón ^d 618H/1196M, 7-86 a	0.83	0.67
Malasia ^e 58H/42M, 17-78 a	0.76	0.70
España ^f 210H/240M, 5-79 a	0.53	0.44
España ^g 52H/62M, 18-82 a	0.55	0.48
Suiza ^h 75H/75M, >18 a	0.67	0.50
Inglaterra ⁱ 944H/938M, adultos	0.63	0.54
Estados Unidos ^j 55H/55M, 49-69 a	0.74	0.66
Estados Unidos ^k 121H/186M, 45-65 a	0.61	0.55

^bHercberg (1994), ^cMorinobu (1994), ^dIto (1990), ^eTee (1994), ^fOlmedilla (1997), ^gFernandez-Bañare (1993), ^hVuilleumer (1983), ⁱThurnham (1988), ^jStacewicz (1987), ^kAscherio (1992).

¹La población estudiada está descrita por sexos (hombre, H y mujer, M) y rango de edad (años, a).

Los carotenoides (α - β - y γ - caroteno y criptoxantina) con actividad provitamina A se absorben en el intestino delgado, en un proceso ligado a sales biliares; a través de un mecanismo de

difusión pasiva. En humanos lo hacen en una proporción de un 5 a un 50%. La absorción va a depender de la grasa de la dieta. Con una dieta "normal", 1/6 del β -caroteno y 1/12 de otros carotenoides con actividad provitamina A son absorbidos (Blomhoff, 1991).

Una vez en las células de la mucosa intestinal se dividen en dos unidades de retinal o bien en retinoides de cadena más larga que luego se convierten en retinol que es esterificado por una enzima: 15`15`-dioxigenasa, para unirse después a los quilomicrones. Una porción de los carotenoides puede ser dividida en una molécula de retinal y una molécula de apocarotenal (Gerster, 1997). El retinal es reducido a retinol en su mayoría, por una retinol deshidrogenasa, pero una pequeña parte del retinal es convertida posteriormente en ácido retinoico (Wang, 1991). Se ha sugerido recientemente que una pequeña porción de 9-cis- β -caroteno puede ser convertida directamente en ácido 9-cis-retinoico (Wang, 1994). La conversión de caroteno en vitamina A va a estar controlada por un mecanismo homeostático en respuesta a las reservas de vitamina A (Wang, 1994). Están involucradas enzimas estimuladas por hormonas tiroideas (Blomhoff, 1992).

Los ésteres de retinol y los carotenoides que no han sido convertidos a vitamina A en el intestino pasan a formar parte de los quilomicrones transportados a través del sistema linfático; y de ahí al sistema circulatorio sanguíneo. Estos quilomicrones se convierten en quilomicrones remanentes que son captados en su mayoría por el hígado, pero una parte importante puede ser captada por otros tejidos facilitando así la liberación de retinol y carotenoides al tejido adiposo, músculo esquelético y riñón (Schwarz, 1983; Schrijver, 1991). Se ha visto que los quilomicrones remanentes juegan un papel importante en la liberación de retinol en los tejidos con una intensa proliferación celular, como es el caso del bazo o la médula ósea, e incluso el músculo esquelético, tejido pulmonar y leucocitos (Blomhoff, 1994a).

La absorción de retinol (70–90%) es más eficaz que la de los carotenoides (20–50%). Al aumentar la ingesta dietética de carotenoides disminuye la absorción pudiendo llegar a un 10%. La absorción también va a depender de la grasa de la dieta (Blomhoff, 1991).

4.5.2. *Almacenamiento*

Una mayoría de quilomicrones remanentes es captada por las células parenquimatosas del hígado mediante el reconocimiento de su apolipoproteína E por receptores específicos (Brody, 1994). Una vez captados por estas células los ésteres de retinol son liberados y rápidamente hidrolizados a retinol por una hidrolasa que ha sido descrita por Harrison y Gad (Joint FAO/WHO Expert consultation, 1988). El alcohol libre se moviliza, unido a una proteína específica plasmática (la proteína transportadora del retinol, RBP) que lo transporta a las "células estrelladas" del hígado, situadas entre los capilares y los hepatocitos (Blomhoff, 1982; 1984). Estas células almacenan grasa. Aquí la vitamina es de nuevo esterificada para su almacenamiento; en esta reesterificación también participa la enzima ARAT, por ello los ésteres formados son principalmente del tipo palmitoil retinol (Herrera, 1989). Este proceso es cuantitativamente muy importante, ya que los ésteres de retinol acumulados en el hígado constituyen hasta un 90% de todos los retinoles del organismo (Underwood, 1984); otros autores consideran que se trata de un 50-80% del retinol total (Blomhoff, 1991). Las células estrelladas del hígado son capaces de modificar su contenido en vitamina A en función de la dieta (Moriwaki, 1988). La grasa de estas células puede contener

aproximadamente un 40% de ésteres de retinol, 13% de colesterol, 28% de triglicéridos, y 4% de fosfolípidos (Goodman, 1988; Brody, 1994). En condiciones normales un 90–95% del almacén de retinil ésteres se encuentra en las células estrelladas, mientras que un 5–10% está en hepatocitos donde el retinol está preparado para ser movilizado (Blomhoff, 1994b).

Estudios de fraccionamiento subcelular (Blomhoff, 1985) y de autorradiografía (Hendriks, 1988) sugieren que la vitamina A del quilomicrón es rápidamente transferida a los endosomas y a continuación al retículo endoplasmático. El retinol se une a la RBP plasmática y después es transferida al aparato de Golgi para su secreción (Blaner, 1989).

4.5.3. Movilización: Proteína transportadora de retinol.

Para la movilización de la vitamina A, ésta es de nuevo convertida en retinol por una hidrolasa (con ayuda de las sales biliares) y liberada al torrente circulatorio unida a la proteína transportadora de retinol (RBP). Parece ser que se da una movilización directa del retinol desde las células estrelladas a la circulación general (Blomhoff, 1992); estas células contienen la cantidad necesaria de RBP para exportar la vitamina A. No se sabe si son capaces de sintetizar RBP, algunos autores no han

podido aislar mRNA para la transcripción de RBP en las células estrelladas (Yamada, 1987), otros sin embargo, cultivando células estrelladas en un medio libre de suero, han visto como éstas han sido capaces de secretar retinol unido a RBP (Andersen, 1992). Otra ruta alternativa para la movilización del retinol es la que sugieren estos mismos autores: la apoRBP (RBP libre) puede unirse a las células estrelladas, formar un complejo con el retinol y llegar a la circulación en forma de RBP-retinol. La apoRBP utilizada puede provenir de las células parenquimatosas del hígado, ya que es aquí donde se encuentra la mayoría de la RBP libre (Blaner, 1989). A diferencia del retinol, el β -caroteno no tiene un transportador específico (Ross, 1993).

La movilización del retinol unido a la RBP asegura unas concentraciones plasmáticas constantes (400–800 $\mu\text{g/L}$ = 1.4–2.8 $\mu\text{mol/L}$) frente a variaciones en la ingesta y el almacenaje (Gerster, 1997). Aproximadamente un 5% del total de la vitamina A en plasma se encuentra unida a lipoproteínas como retinil ésteres. Existe una pequeña cantidad que circula como retinil ésteres libres (\cong 50 $\mu\text{g/L}$).

Proteína transportadora del retinol

Fue aislada por primera vez, en plasma humano por Kanai y col. en 1968 y resultó ser un polipéptido simple con un peso

molecular de 21200 daltons (Kanai, 1968). Se han aislado RBPs de distintas especies animales y todas ellas presentan similares características y solamente existen pequeñas diferencias en la composición de aminoácidos (Poulik, 1975; Rask, 1981). La RBP humana consta de 182 aminoácidos y tres puentes disulfuro y se sintetiza en el hepatocito.

Estudios realizados con cristalografía de rayos X muestran que la proteína tiene un centro hidrofóbico y ocho cadenas alrededor. Esta molécula presenta alta especificidad por el β -retinol y no por su análogo α - (Muhilal, 1975). Esta alta especificidad explica porque el α -retinol, que puede ser absorbido y almacenado en el hígado como análogo natural β -retinol, no puede ser distribuido a los tejidos extrahepáticos, donde podría ejercer la actividad biológica que se ha demostrado in vitro (Clamon, 1974). El retinal y el ácido retinoico no se unen tan rápida ni tan eficazmente a la proteína como lo hace el todo-trans- β -retinol (Muhilal, 1975). El enclaustramiento que sufre el retinol en el depósito hidrofóbico de la proteína transportadora lo protege de la acción de las enzimas y aumenta así su estabilidad.

Además del sitio de unión a la vitamina A, la proteína transportadora del retinol posee otros dos sitios de unión: uno para la prealbúmina (TTR) (Van Jaarsveld, 1973) y otro para la unión a los receptores presentes en la superficie de las células diana (Heller, 1975). Aunque la TTR dispone de cuatro subunidades equivalentes con capacidad para unirse a cuatro moléculas de RBP, parece ser que cuando una molécula de RBP se une a la TTR se produce una cooperación negativa, y las subunidades restantes reducen su afinidad por la proteína (Tragardh, 1980).

Esta unión a la transtiretina, le confiere ventajas fisiológicas al reducir el rango de pérdida del plasma a través del riñón. Además de su papel en el transporte de retinol la TTR también une a las hormonas tiroideas del plasma. Se trata de un tetrámero estable y simétrico, compuesto por subunidades de peso molecular idéntico (54.980 daltons). En el centro de la molécula hay un canal que contiene dos sitios de unión simétricos para la T₄, que son distintos de los que se unen a la RBP (Herrera, 1989).

Al entrar en contacto la RBP con la proteína receptora situada en la membrana celular se produce la liberación de

retinol que se introduce en el interior de la célula. Parece ser que la RBP no entra en la célula cuando libera al retinol (Brody, 1994). El retinol es introducido en la célula mientras que la RBP libre de él vuelve a la circulación en forma de apo-RBP, que tiene poca afinidad por la TTR y es filtrada de forma selectiva por el glomérulo renal.

Una vez dentro de las células hay proteínas que enlazan al retinol (tipo I y tipo II), y otras proteínas que enlazan al ácido retinoico (CRABP) (Chytil, 1984). Estas proteínas están presentes en la mayoría de las células del organismo, y están formadas por una cadena única de 134 aminoácidos en el caso de la CRBP y 136 aminoácidos en el caso de la CRABP (Sundelin, 1985). No se conoce bien su función pero parece ser que juegan un papel importante en la interacción específica del retinoide con su respectivo ligando en el núcleo celular (Whitney, 1987).

Factores involucrados en la síntesis y secreción de RBP plasmática.

El retinol es transportado a los tejidos diana unido a la RBP plasmática, como holoproteína. Normalmente la concentración de holoRBP en plasma va a depender de la cantidad sintetizada

en el hígado y secretada al plasma y de la cantidad que se elimina a través del metabolismo en el riñón.

La proteína es sintetizada como una molécula pre-RBP con un peso molecular de 24000 daltons (Soprano, 1981), posteriormente pierde un péptido señal de 3500 daltons de peso molecular, durante el proceso en que atraviesa el retículo endoplasmático antes de unirse al retinol (Smith, 1981). La cantidad de proteína que es biosintetizada, sin embargo, no se va a ver afectada por la presencia o ausencia de retinol (Soprano, 1982). El retinol sólo afecta a la secreción cuando no hay exceso de almacenaje en el hígado.

4.5.4. Transporte intercelular de vitamina A

La RBP es la única proteína transportadora de retinol que se ha encontrado en el plasma, sin embargo, se ha conseguido aislar proteínas transportadoras de retinol en el fluido intersticial y en otros fluidos del cuerpo humano, estas proteínas pueden tener una función de transporte local. Se ha conseguido identificar una proteína transportadora de retinol inter-fotorreceptor (IRBP) (Wolff, 1991), situada en el espacio entre las células epiteliales pigmentadas de la retina y las células fotorreceptoras. Además de unir retinol, esta proteína une

vitamina E, ácidos grasos y colesterol. Puede participar en el transporte de retinol durante el ciclo visual (Flannery, 1990). Esta IRBP también está presente en otros órganos como la glándula pineal (Wolf, 1991).

El fluido lacrimal contiene retinol unido a una proteína relacionada o idéntica a la RBP (Herbet, 1991); importante fuente de vitamina A para el epitelio ocular.

Se ha visto que el útero de cerdos hembras segrega una proteína similar a la RBP, se cree que puede transportar retinol a la placenta (Clawitter, 1990).

Ong y Chytil observaron que dos proteínas denominadas proteínas transportadoras del epidídimo 1 y 2 (EBP1 y EBP2), que eran secretadas en el lumen de la primera porción del epidídimo, eran transportadoras de ácido retinoico (Ong, 1988). Este ácido retinoico es liberado al esperma participando en su maduración.

4.5.5. Captación celular del retinol

El mecanismo por el que el retinol abandona su sitio de unión con la RBP (centro hidrofóbico) para incorporarse a la célula diana, todavía no está claro. Puede ser que la holoRBP

tome una o varias conformaciones de apertura cuando se une a su receptor en la célula diana, facilitando la liberación del retinol que penetra en la bicapa lipídica de la célula. La apoproteína, se cree que permanece fuera de la célula (Rask, 1976; Chen, 1977), y se desnaturaliza de manera que la apoproteína que circula en plasma será incapaz de captar más retinol. Hay controversias sobre si se produce una transferencia no específica del retinol desde la RBP a las membranas celulares o no es este el mecanismo de cesión del retinol a las células (Fex, 1987; 1988; Noy, 1991).

a. Células epiteliales pigmentadas de la retina (RPE)

En estudios de autorradiografía Heller y Bok (Heller, 1976) vieron que el ¹²⁵I-RBP se unía solamente a la superficie coloidal de las células RPE. Esta unión fue inhibida por la presencia de un exceso de RBP no marcada; no se observó la unión de RBP a las células fotorreceptoras o a otro tipo de células de la retina. Heller mostró evidencias de que la unión de RBP a las células RPE era saturable (Heller, 1975), también observó que la RBP no se introduce en las células.

Ottonello y col. (Ottonello, 1987) observaron que el retinol, una vez liberado de la RBP y captado por las células RPE,

se asociaba a una proteína de peso molecular 16.000 daltons. Se cree que esta proteína puede ser la CRBP (tipo I). Parece haber una relación funcional entre la captación de retinol y su esterificación, ya que al inhibir la formación de retinil ésteres se produce una reducción en la captación de vitamina A por las células RPE. Puesto que la proteína involucrada es la CRBP (tipo I), la enzima encargada de la esterificación debe ser la lecitinretinol aciltransferasa (LRAT).

Se ha visto que el receptor del retinol en estas células tiene un peso molecular aproximado de 63.000 daltons (Bavik, 1991).

b. Hepatocitos y células estrelladas del hígado

Los hepatocitos y las células estrelladas del hígado pueden captar tanto retinol como RBP del RBP-retinol plasmático a través de un transporte complejo (Gjoent, 1987), esto se ha visto in vivo.

Hay una captación selectiva de RBP por el parénquima del hígado y por las células estrelladas según un estudio de Senoo y col. (Senoo, 1990) realizado en ratas; la RBP no es captada por las células de Kupffer o las células endoteliales.

c. Testículos y barrera hematoencefálica

Las células de Sertoli forman la barrera sangre-testículos y están encargadas de la maduración de los espermatozoides. Puesto que la espermatogénesis es dependiente del retinol, cabría esperar que las células de Sertoli expresaran receptores para RBP. Shingleton y col. (Shingleton, 1989a) vieron que el retinol era captado por estas células desde el RBP-retinol a través de un receptor RBP, y este RBP no era introducido en las células. Los datos obtenidos sugieren que el retinol se une a CRBP (tipo I) dentro de las células para ser posteriormente esterificado (Shingleton, 1989b).

Resultados similares fueron obtenidos por MacDonald y col. (McDonald, 1988) en cerebro de rata. Tras una inyección intravenosa de ^{125}I -RBP, este fue localizado a lo largo de la superficie basolateral y dentro de las células epiteliales coroidales. Se midieron concentraciones altas de CRBP (tipo I) dentro de estas células.

4.5.6. Reciclaje y homeostasis del retinol plasmático.

Hasta hace más de una década, se había creído que el retinol una vez que abandona la circulación y es captado por los

tejidos, estos lo utilizan de manera irreversible. Sin embargo, ya en 1972 Vahlquist (Vahlquist, 1972) indica que el retinol puede recircular en la sangre. Esto ha sido comprobado en ratas (Green, 1985; 1987a; 1987b; Lewis, 1981; 1990), donde una molécula de retinol puede reciclarse de 7–13 veces antes de su utilización irreversible. El vehículo para el reciclaje es el RBP (Green, 1985). También se ha visto en ratas que el 50% del recambio plasmático de retinol sucede en riñón (Green, 1987a; Lewis, 1990), aproximadamente un 20% se da en hígado y el resto lo hace en otros tejidos. La fuente de RBP para el reciclaje de retinol en el riñón y en otros tejidos, no se conoce aún; pero estos tejidos presentan mRNA para RBP (Makover, 1989; Soprano, 1986).

El tiempo de recambio del retinol plasmático está definido como la media de distribución de los tiempos en que las moléculas de retinol permanecen en el plasma antes de que este abandone el plasma reversible o irreversiblemente (Blomhoff, 1992). En ratas se ha visto que este tiempo es de 1–3.5 horas (Green, 1985; 1987b; Lewis, 1990).

Tanto en humanos como en animales de experimentación, las concentraciones de retinol plasmático se mantienen dentro de un rango estrecho, frente a amplias fluctuaciones de la ingesta

dietética de vitamina A. No se conoce bien el mecanismo de control del retinol plasmático. Este puede ser controlado por el depósito de retinol que equilibra el RBP-retinol plasmático, el RBP-retinol del fluido intersticial y el CRBP (I)-retinol intracelular. Al tratarse, las células estrelladas, del principal depósito de vitamina A en el cuerpo, es probable que la regulación de la expresión de CRBP (I) de estas células, sea uno de los factores involucrados en la regulación de la homeostasis (Blomhoff, 1991). Otro factor puede ser las distintas enzimas que se encuentran en los tejidos, que esterifican el retinol y que hidrolizan los retinilesteres. Hay dos órganos que juegan un papel principal: hígado y riñón. Underwood y col. (Underwood, 1979) sugirieron que la utilización de la vitamina A estaba en función de la respuesta del hígado a un "metabolito señal" que disminuía la secreción de retinol por parte del hígado, disminuyendo así las concentraciones plasmáticas de retinol. Más recientemente Gerlach y Zile (Gerlach, 1991), en un estudio realizado con ratas, a las que se les provocó un fallo renal crónico, se les midió los niveles plasmáticos de retinol y RBP, y se encontró que estaban más elevados que en un grupo control. Resultados similares se han observado en humanos con un fallo renal crónico (Smith, 1971; Underwood, 1984); por tanto estos autores creen que los riñones pueden suministrar una señal

específica que regula la acción del hígado, provocando alteraciones en la secreción de RBP-retinol.

4.5.7. Metabolismo intracelular del retinol

El papel de las proteínas transportadoras, dentro de las células, es el de dirigir los retinoides hacia enzimas específicas. Hay tres procesos principales involucrados en el metabolismo intracelular del retinol: a) El retinol puede ser almacenado después de su conversión en retinilesteres; b) el retinol puede ser convertido en un metabolito activo como el ácido retinoico o el retinal; c) la molécula de retinol o ácido retinoico puede ser catabolizada para ser posteriormente excretada (Blomhoff, 1991).

A) ESTERIFICACION DEL RETINOL

La principal enzima que participa en el proceso de esterificación intracelular es la LRAT, esto es en condiciones normales. Se ha visto la presencia de LRAT en células estrelladas de hígado (Blaner, 1990), y los altos niveles de CRBP (tipo I) en estas células muestran la importancia de la LRAT en esterificación intracelular del retinol.

En los enterocitos la LRAT esterifica al retinol para incorporarlo a los quilomicrones, mientras que en las células estrelladas lo esterifica para almacenarlo en las gotas de grasa de estas células. Esta deferencia puede deberse a las distintas proteínas transportadoras, CRBP (tipo I) para las células estrelladas del hígado y CRBP (tipo II) para los enterocitos.

La actividad LRAT en las células del epitelio pigmentado de la retina (RPE) es aproximadamente 1000 veces mayor que la actividad en intestino y en hígado (Saari, 1989). La esterificación de todo-trans retinol por la LRAT en las RPE está relacionada con la conversión de todo-trans retinil esterés a 11-cis retinol por una enzima con actividad isomerasa (Canada, 1990).

En la glándula mamaria de la madre el retinol es esterificado y transportado como retinil esterés en la grasa de la leche. Aquí es la ARAT la enzima más importante para la esterificación del retinol. Randolph y col. (Randolph, 1991) vieron que la glándula mamaria contenía niveles menores de actividad LRAT y CRBP (tipo I) que en el hígado.

Se ha visto en la epidermis de humanos que hay un gradiente de ésteres de retinol, siendo la concentración mayor en

la capa más externa de la piel. Aquí también parece ser más importante la actividad enzimática de la ARAT. El gradiente de pH que existe en la epidermis puede ser importante para facilitar la esterificación del retinol en la parte superior de la epidermis (Torma, 1990).

B) ACTIVACION DEL RETINOL

El 11-cis retinal covalentemente unido a la opsina y el ácido todo-trans retinoico unido no covalentemente a los receptores nucleares retinóicos (RARs) son las formas activas de los retinoides tanto en la visión como en la regulación de la transcripción. También se ha demostrado que el ácido 9-cis retinoico se une y activa los tres receptores retinóicos nucleares X (RXRs), factores de la transcripción ligando-dependientes (Levin, 1992). Así, la isomerización no sólo es importante en la visión, sino que también interviene en la regulación de la transcripción.

Parece ser que el ácido retinoico no puede sustituir en todas las funciones del retinol en la regulación del crecimiento. El retinol es metabolizado por muchas células a 14-hidroxi-4,14-retro-retinol, y este compuesto puede ser el mediador de estos efectos.

La vía metabólica por la que el ácido retinoico es sintetizado in situ no es del todo conocida. Se cree que la síntesis ocurre en dos pasos distintos, incluyendo la deshidrogenación del retinol por alcohol deshidrogenasas y una posterior oxidación del retinal a ácido retinoico.

4.5.8. Excreción

Se ha estudiado el catabolismo del retinol por análisis radioactivo urinario, biliar y fecal de metabolitos del retinol. Se forman distintos metabolitos polares, algunos de ellos ya han sido identificados (Frolik, 1984). En estudios realizados con microsomas hepáticos de rata, el retinol se oxida a 4-hidroxi retinol y 4-oxo retinol, el sistema citocromo P-450 parece estar involucrado en esta conversión (Leo, 1985). Se pueden formar glucurónidos del retinol para ser excretados por la bilis y por orina (Barua, 1986). Sin embargo, la mayoría del catabolismo del retinol pasa por la formación de ácido retinoico como intermediario. El ácido retinoico posteriormente se conjuga y pasa a retinol β -glucurónido y taurina (Frolik, 1984).

5. Vitamina E

5.1. *Historia*

La vitamina E fue descubierta por Evan y Bishop en 1922 (Evan, 1922). Observaron que en ratas alimentadas con una dieta compuesta a base de caseína, fécula y manteca de cerdo, mantequilla, sal y levadura eran estériles y que la fertilidad se restauraba con la ingesta de lechuga o de aceite de germen de trigo, pero no con aceite de hígado de bacalao o aceite de flor de harina o aceite de grano de trigo. Concluyeron entonces que debía haber un factor x, presente en ciertos aceites de plantas, que sería un ingrediente dietético esencial. En 1924 Sure et al. (Sure, 1924) lo denominó vitamina E. Olcott y Mattill en 1931 describen por primera vez la función antioxidante de la vitamina E, una propiedad que sería reconocida posteriormente como su función biológica más importante (Olcott, 1931). En el mismo año, Pappenheimer y Goetsch describieron que la vitamina E también estaba implicada en la prevención de encefalomalacia en polluelos y la distrofia muscular en ratones (Pappenheimer, 1931).

El ensayo para curar sintomatología similar en seres humanos (especialmente distrofia muscular) con la vitamina E, y una fuerte confusión a cerca del verdadero origen de este y otros

síntomas, dio lugar a creer que la vitamina E tenía poca o ninguna función en el metabolismo humano.

En 1936 Evans consiguió aislar el α -tocoferol, cuyo nombre fue sugerido por George M Calhoun, profesor griego de la universidad de California (Evans 1962). La palabra se compuso a partir de términos griegos "tokos" (prole) y "pharo" (dar a luz). En 1938 Fernholz describió la estructura química del α -Tocoferol y el mismo año Barrer conseguía su síntesis.

Filer y Mason en 1946 y 1947 respectivamente, comienzan a poner de relieve la importancia del papel protector de la vitamina E en la peroxidación "in vivo" de los ácidos grasos poliinsaturados. No obstante lo atractivo de los procesos de reproducción, con los que esta vitamina apareció primeramente ligada, mantendría esta función, y la orientación de los investigadores sobre el tocoferol, como primordial dejando un tanto de lado las propiedades antioxidantes de los tocoferoles puestas de manifiesto tan tempranamente en los citados estudios (Horwitt 1976). También Mason en 1947 y Filer en 1948, fueron los primeros en estudiar las manifestaciones del déficit de vitamina E en monos "rhesus" primeros estudios en primates, incluyendo al hombre (Filer, 1949).

En los años 40 y 50 se asiste a la sucesiva aparición de trabajos de investigación marcados por el interés del estudio de las funciones de la vitamina E en la nutrición infantil. En 1938 Widenbaver, realizó el primer ensayo clínico con la administración terapéutica de vitamina E (en forma de germen de trigo) a recién nacidos prematuros que presentaban un escaso incremento ponderal, remarcando su efecto positivo sobre la ganancia de peso (Widenbaver, 1938).

György y Rose en 1948 demuestran que las ratas con un déficit de vitamina E desarrollaban una anemia hemolítica que podía ser corregida con la administración de tocoferol (György, 1948). En 1952 se comprueba que los eritrocitos de RNAT eran susceptibles de hemolizarse en presencia de peróxido de hidrógeno y que los suplementos de vitamina E prevenían esta hemólisis. En este mismo año Gordon y De Metry demostraron que este fenómeno también acontecía en RNPT (Gordon, 1952). Esta susceptibilidad a la hemólisis fue la base fisiopatológica argumentada en una nueva entidad, la anemia hemolítica del prematuro, que se descubre en los años 60 en RNPT que eran alimentados con fórmulas de bajo contenido en vitamina E y gran contenido en ácidos grasos poliinsaturados y en hierro

(Hassan, 1966; Oski, 1967; Ritchie, 1968; Willians, 1975; Bell, 1981). La mejora permanente de la composición de las formulas infantiles han eliminado la anemia hemolítica por déficit de vitamina E, exceptuando los raros casos de alimentación parenteral total prolongada con emulsiones de lípidos, o aquellos de malabsorción por colostasis en enfermedades hepáticas, o aquellos otros de fibrosis quística de páncreas.

En 1949 Owens y Owen, aportaban sus estudios acerca de la prevención de la retinopatía del prematuro mediante la administración oral de vitamina E. (poco después fue identificado el oxígeno como el principal causante de esta entidad, las observaciones de Owen y Owens fueron dejadas de lado (Owens, 1949). En 1974 Johnson, et al. (Johnson, 1974) demuestran una disminución de la frecuencia y gravedad de la retinopatía en el grupo tratado con vitamina E. No obstante la investigación y discusión sobre la relación existente entre la fibroplasia retrolental y vitamina E continúan hasta la fecha actual sin unos resultados concluyentes.

En 1949, Minkowski pone de manifiesto la profilaxis de la hemorragia intracraneal del prematuro, mediante la administración de sustancias con acción protectora vascular

(tocoferol) a las mujeres durante el parto (Minkowski, 1949). Algunos autores muestran una disminución de la incidencia (Speer, 1984; Sinha, 1987) o de la severidad (Chiswick, 1983) de la hemorragia intracraneal con empleo de vitamina E, pero otros autores refieren un aumento de la frecuencia de la aparición de hemorragia intraventricular y retiniana en niños que recibían tocoferol vía intravenosa (Phelps, 1984; Rosebaum, 1985). Esta última observación podría explicarse por el efecto de la vitamina E sobre la coagulación: el tocoferol disminuye la agregación plaquetaria e interfiere la acción de los factores de la coagulación de la vitamina k dependientes.

En 1951 Filer demuestra que la vitamina E puede ser bien absorbida por el tracto intestinal del prematuro (Filer, 1951). En 1959 la “Food and Nutrition Board” de los EE.UU. reconoció a la vitamina E como “nutriente esencial” en la administración del ser humano (Marks, 1975).

5.2. Estructura química

La vitamina E pertenece al grupo de las vitaminas liposolubles junto con las vitaminas A, D, y K.

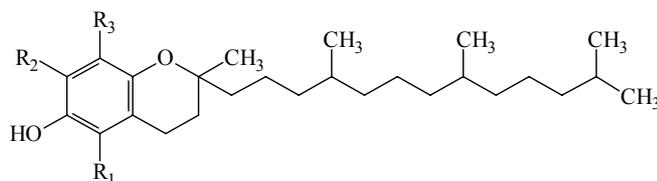
Dentro del término vitamina E se incluyen distintos compuestos que están relacionados químicamente. Existen al menos 8 formas de tocoferol (4 tocoferoles y 4 tocotrienoles). Estas diversas formas se distinguen por el sitio de los variados grupos metilo, ambos en el anillo fenólico y en la cadena lateral de la molécula, como también el estado de insaturación de la cadena lateral.

Son los tocoferoles el grupo más destacado formado por el α -, β -, γ - y δ - tocoferol. Se trata de un núcleo fenólico, benzopirano o bromanos, sustituido en la posición 2 por una cadena lateral saturada (Fernholz, 1938; Morisot, 1984; Diem 1975). Además, posee un grupo hidroxilo que puede estar esterificado o no, pero debe estar libre para que el compuesto manifieste actividad vitamínica.

La forma más activa y abundante en la materia nutritiva es en particular el estereoisomero α -tocoferol, responsable del 90% de la actividad en tejidos animales (Figura 5). Se ha visto que la forma sintética es menos activa que la forma aislada de las plantas. Esto es debido a que la molécula presenta varios centros asimétricos, que dan lugar a estereoisómeros durante la

síntesis. El α -tocoferol sintético contiene una mezcla de 8 isómeros denominada Rac- α -tocoferol.

Fórmula del tocoferol:



Compuesto	R ¹	R ²	R ³
α -Tocoferol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β -Tocoferol	CH ₃	H	CH ₃
γ -Tocoferol	H	CH ₃	CH ₃
δ -Tocoferol	H	H	CH ₃

Fig. 5

El α -tocoferol natural está constituido tan sólo por el RRR- α -tocoferol. La actividad del Rac- α -tocoferol es el 74% de la del RRR- α -tocoferol (Diplock, 1985, NRC, 1989). Existen también de forma natural, otros compuestos similares a los tocoferoles, los tocotrienoles, que se diferencian de los anteriores en su cadena lateral y por poseer menor actividad vitamínica.

A efectos prácticos sólo 2 de las restantes formas de esta vitamina tienen importancia en la nutrición infantil: el α y β -tocoferol los cuales tienen dos grupos metilo en el anillo bencénico. La actividad de la forma β es aproximadamente 30% y la de la forma δ un 10-15% respecto a la del α -tocoferol (Farrel, 1985).

Por su estructura fenólica presenta capacidad antioxidante ya que permite la fijación de radicales libres. La liposolubilidad viene dada por la cadena lateral de ácidos grasos y es ésta la que facilita la retención de la vitamina E por las membranas biológicas (Fritsma, 1983).

En estado natural los tocoferoles son aceites viscosos, amarillentos, fácilmente solubles en solventes orgánicos (éter, acetona, cloroformos) y en grasas, e insolubles en agua. Son termoestables, sensibles a la luz ultravioleta y a la oxidación, y resistentes a los ácidos y álcalis.

5.3. Ingesta dietética de vitamina E

La dosis diaria recomendada (RDA) (Brody, 1994) para adultos es de 10 mg de α -tocoferol, o su equivalente biológico. También es importante señalar la RDA en niños puesto que es en

esta población donde se suele producir deficiencia de vitamina E. La RDA (Brody, 1994) en recién nacidos es de 3 mg de α -tocoferol, o su equivalente. Las necesidades de vitamina E en niños han sido expresadas en términos de cantidad de ácidos grasos insaturados en la dieta.

Una buena fuente de vitamina E son los aceites vegetales: aceite de maíz, soja y cacahuete. Las grasas animales como las mantecas y mantequilla tienen menores cantidades de vitamina. La cantidad diaria de vitamina E que se ingiere está alrededor de 10 mg, luego resulta bastante raro que se produzca una deficiencia por esta vitamina (Brody, 1994).

TABLA VII.- CANTIDAD DE VITAMINA E EN DISTINTOS ALIMENTOS

<i>Alimento</i>	<i>α-tocoferol¹</i>
Aceite de semilla de trigo	120
Aceite de girasol	50
Aceite de maíz	16
Pescado, huevos y ternera	0.5-2.0

Brody (1994).¹ mg de tocoferol/100mg alimento

5.5.1. *Determinación del estado nutricional de vitamina E*

No se puede valorar el estado nutricional de esta vitamina con el valor aislado de su concentración plasmática (Farrell, 1985; Karp, 1986),

ya que ésta es muy variable en adultos y niños normales. Depende de la interacción de numerosos factores como la concentración de triglicéridos, fosfolípidos, colesterol, lipoproteínas, grado de eliminación del plasma y de almacenamiento en los tejidos (Bierl, 1972). También existen variaciones con el embarazo, con el estado nutricional y con la edad (Molina, 1986; Bayes, 1986). Si aumentan los lípidos en plasma, aumentan las concentraciones plasmáticas de tocoferol, movilizado desde los almacenamientos tisulares, principalmente de los eritrocitos (Omaye, 1986; Valverde, 1987). Así, se considera como mejor indicador del estado nutricional de la vitamina E el índice vitamina E/lípidos totales (Horwit, 1972).

Para la valoración del estado nutricional de la vitamina E se utilizan las concentraciones en hematíes y en plaquetas (Lehmann, 1988; Mino, 1989). Las concentraciones de vitamina E en las membranas biológicas son independientes de los lípidos plasmáticos y se correlacionan con el índice tocoferol plasmático/lípidos totales plasmáticos (Kitagawa, 1983; Vatassery, 1983; Mino, 1985a). Se ha visto en estudios realizados con ratas que la concentración de vitamina E en eritrocitos está relacionada con los depósitos hepáticos de vitamina E (Mino, 1985a).

TABLA VIII.- VALORES MEDIOS DE LAS CONCENTRACIONES DE α -TOCOFEROL EN SUERO O EN PLASMA EN DIFERENTES PAISES

<i>PAIS (ref.)</i> ¹	<i>α-TOCOFEROL</i> ($\mu\text{g/ml}$)	<i>α</i> ($\mu\text{g/ml}$)	
		<i>MUJER</i>	<i>HOMBRE</i>
Francia ^b 442H/552M, 6-97 a		10.1	10.5
Alemania ^c 862H/1144M, 18-50 a		12.6	12.6
Japón ^d 65H/60M, 22-86 a		7.2	7.9
Japón ^e 618H/1196M, 7-86 a		9.9	10.4
España ^f 210H/240M, 5-79 a		12.3	12.0
España ^g 52H/62M, 18-82 a		11.1	10.6
Estados Unidos ^h 121H/186M, 45-65 a		11.7	11.3

^bHercberg (1994), ^cSchneider (1995), ^dMorinobu (1994), ^eIto (1990), ^fOlmedilla (1997), ^gFernandez-Bañare (1993), ^hAscherio (1992).

¹ La población estudiada está descrita por sexos (hombre, H y, mujer, M) y rango de edad (años, a).

En las tabla VIII quedan expuestos los valores medios de las concentraciones de α -tocoferol en suero y plasma publicadas por diferentes autores, mientras que en la tabla IX quedan reflejados los valores medios de α -tocoferol en estudios realizados en eritrocitos.

TABLA IX.- VALORES MEDIOS DE LAS CONCENTRACIONES DE α -TOCOFEROL EN ERITROCITOS EN ADULTOS DE DIFERENTES PAISES.

<i>PAIS (ref.)</i>	<i>Casos</i>	<i>α-TOCOFEROL(μg/ml)</i>
USA (LEHMANN, 1984)	16	2.14 \pm 0.06
USA (MINO, 1985)	26	1.76 \pm 0.09
USA (LEHMANN, 1988)	20	2.19 \pm 0.04
USA (CHOW, 1989)	14	2.70 \pm 0.01
España (SIERRA, 1992)	46	1.75 \pm 0.03
Japón (SAITO, 1992) (universitarios)	20	0.96 \pm 0.19

5.4. Metabolismo de la vitamina E

5.4.1 *Absorción*

La vitamina E se absorbe en el intestino junto a los lípidos, como todas las sustancias liposolubles, su absorción depende de la función pancreática, la secreción biliar, de la formación de núcleos y del transporte a través de las membranas intestinales (Hollander 1981). No se conoce el lugar exacto de la absorción, aunque hay autores que sugieren que tiene lugar fundamentalmente en porciones altas y medias del intestino delgado y es máxima en yeyuno (Horwitt 1984).

Hay una incorporación posterior a los quilomicrones y un transporte hacia la circulación a través de la linfa. Estudios con

membranas celulares indican que el α -tocoferol es absorbido por procesos de difusión pasiva desde el intestino delgado al enterocito (Hollander, 1975).

Los triglicéridos de cadena media aumentan la absorción de α -tocoferol (Gallo-Torres, 1971), los AGPI (ácidos grasos poliinsaturados) de cadena larga poseen un efecto inhibitor debido a que son capaces de oxidar al α -tocoferol in vivo (Bjorneboe, 1987).

Estudios de cinética absorptiva con radio tocoferol, demuestran que la absorción de α -tocoferol sigue una curva bifásica, probablemente en relación con dos fenómenos: por un lado parece tener lugar un doble vaciamiento del intestino, y por otro una movilización del sustrato-enzima durante la formación de quilomicrones y de VLDL (Schwarz, 1983). Se ha querido restar importancia a la secreción de enzimas pancreáticos, realzando el papel fundamental que desempeña en la absorción de la vitamina E la integridad y adecuada regeneración del enterocito que contiene una esterasa en su borde en cepillo.

La acción de estos enzimas depende de la concentración de ácidos biliares intraluminales (Valverde, 1987). Diversas

circunstancias pueden modificar la absorción de esta vitamina. Así, es conocido que la ingestión en exceso de oxidantes como el hierro, reduce la absorción intestinal de vitamina E (Aranda, 1986). También se ha demostrado que la eficacia de la absorción de vitamina E por el intestino disminuye proporcionalmente al aumento de la cantidad de vitamina E ingerida (Farell, 1985). La lactancia natural aumenta la absorción de tocoferol, ya que la leche humana estimula la formación de sales biliares, incrementando de este modo la absorción de lípidos y compuestos liposolubles.

La absorción de vitamina E tiene un límite, habiéndose comprobado que tras la administración de 100 mg/día de esta sustancia, se alcanzan las mismas cifras plasmáticas que cuando se aportan 25 mg/día (Hittner, 1981).

Su coeficiente de absorción varía ampliamente, desde un 20% a un 40%, dependiendo del preparado de tocoferol que se considere y de la capacidad individual para la digestión y absorción de grasas, que conocemos, está disminuida en el recién nacido y, de forma más acentuada en el prematuro (Schwarz, 1983). En estos y en los nacidos a término, las grasas tienen un coeficiente de absorción en torno al 91%, que

disminuye cuando en la alimentación se emplea leche liofilizada o pasteurizada o, simplemente, conservada en frío (Rey, 1982).

Los preparados hidrosolubles orales, se absorben mejor que las soluciones oleosas (Schwarz, 1983, Horwitt, 1984, Lemons, 1985). Al considerar el empleo terapéutico en grandes prematuros (menos de 32 semanas de edad gestacional), sería preferible utilizar un preparado liposoluble (Melhorn, 1971, Jansson, 1984). En cuanto a la influencia de la edad gestacional en la absorción de vitamina E, hay autores que opinan que aquella no es determinante (Ehrenkranz, 1978), mientras que otros, por el contrario, (Melhorn, 1971) han comprobado una absorción limitada en recién nacidos de menos de 32 semanas de gestación, demostrando un aumento gradual conforme la edad gestacional se acerca a las 37 semanas. En estudios realizados en prematuros de menos de 1500 g se ha considerado, sin embargo, que la absorción plasmáticas consideradas normales y próximas a los valores del adulto, a pesar de estar recibiendo de forma coincidente el suplemento recomendable de hierro (Bell, 1979, Aranda, 1986). Estas observaciones ponen en duda la necesidad de una administración rutinaria de suplementos de vitamina E a niños prematuros.

La administración intramuscular de vitamina E ocasiona una absorción irregular desde el punto de la inyección (Phels, 1979). La vida media cuando se administra por vía parenteral es muy variable (Lemons, 1985), por lo que debería evitarse, más aún si se tiene en cuenta además que, ocasionalmente, produce reacciones locales y que su administración por esta vía siempre es dolorosa (sin olvidar que su aporte resulta muchas veces innecesario) (Bell, 1979).

5.4.2. Transporte

El α -tocoferol llega a la circulación general a través del conducto torácico (Farell, 1985). Aproximadamente el 99% del α -tocoferol en linfa es transportado asociado a los quilomicrones, y en menor medida a las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Bjorneboe, 1986). Aproximadamente un 35% de la vitamina E ingerida pasa a la circulación general por la vía linfática, el resto se elimina por heces (Leboulanger, 1981, Bieri, 1987). A diferencia del retinol y del colesterol, el α -tocoferol no es reesterificado durante la absorción intestinal, comportándose de manera similar a las vitaminas D y K.

Aún no se conoce bien la manera en que el α -tocoferol es transportado desde el borde de la membrana del cepillo del

enterocito al complejo de Golgi para incorporarse a los quilomicrones. Pueden estar involucrados procesos de endocitosis, difusión pasiva o transporte mediado por proteínas (Cohn, 1992, Drevon, 1993).

En el caso de la vitamina E no existen proteínas plasmáticas que medien su transporte, de esto se encargan las lipoproteínas. Cuando la vitamina E pasa al plasma unida a los quilomicrones rápidamente se transfiere a otras lipoproteínas (Burton, 1993).

La homeostasis del colesterol esta íntimamente relacionada con el metabolismo de las lipoproteínas del plasma. Son numerosos los estudios que demuestran las relaciones entre la vitamina E y la distribución del colesterol en las lipoproteínas. La vitamina E esta presente en todas las lipoproteínas, en la que podría intervenir una proteína de transferencia de fosfolípidos (Kostner, 1995). En humanos, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL) representan las clases más abundantes de lipoproteínas y son las transportadoras más importantes de vitamina E en la sangre (Behrens, 1982, Ogihara, 1988). Behrens et al. (Behrens, 1982) demostró que la distribución del α -tocoferol en las lipoproteínas

se correlaciona con la fracción proteica de las mismas, otros autores sin embargo, afirman que la distribución de α -tocoferol en las lipoproteínas plasmáticas está determinada por la cantidad de lípidos en cada una de ellas (Massey, 1984). Aunque la LDL y HDL son los principales transportadores de α -tocoferol, tanto en hombres como en mujeres, se encuentra una mayor proporción de vitamina E unida a la LDL en hombres mientras que en las mujeres se da una mayor proporción de esta vitamina en la HDL (Takahashi, 1979, Behrens, 1982). Esta diferencia no se ha encontrado en niños (Mori, 1989).

El α -tocoferol también es transportado por los eritrocitos y las plaquetas. En el caso de los eritrocitos sólo se encuentra en la membrana de los mismos. Los niveles de vitamina E en hematíes son inferiores a los que se encuentran en el plasma, la relación de estas cantidades es aproximadamente de 1:3 (Burton, 1985), otros autores afirman que la concentración en el eritrocito es aproximadamente de un 20% de la concentración plasmática (Chow 1989). Se ha visto en ratas que existe un equilibrio dinámico entre vitamina E plasmática y eritrocitaria (Silber, 1969).

No se sabe aún como el α -tocoferol se incorpora a los eritrocitos y a las plaquetas, pero se ha visto que existen lugares de unión para el RRR- α -tocoferol en la superficie de los eritrocitos humanos (Mori, 1989). Se ha visto que existe un transporte preferente de α -tocoferol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) hacia los eritrocitos cuando se incuban estos junto a LDL y HDL (Kayden, 1972, Ogihara 1988), parece ser debido al menor tamaño de las HDL que facilitaría así un mayor número de puntos de unión con la membrana del hematíe (Ogihara 1988).

5.4.3. Distribución

Los tejidos y órganos diana más importantes de depósito de tocoferol son pulmón, hígado, tejido adiposo, componentes sanguíneos, músculo esquelético, corazón, sistema endocrino-glandular (suprarrenales, hipófisis, testículos), útero y sistema nervioso (Leboulanger, 1981, Farrell, 1985, Kaseki, 1986, Valverde, 1987). Los adipocitos tienen gran parte del tocoferol corporal, pero se duda de la posibilidad de que la vitamina E presente en este tejido pueda ser utilizada por otros tejidos en un momento dado, ya que se ha visto que cuando se administra una dieta pobre en vitamina E, aunque los niveles de tocoferol en

tejido adiposo permanecen altos, las concentraciones séricas de tocoferol disminuyen con rapidez (Bieri, 1972, Farrell, 1985).

El α -tocoferol puede acceder a los tejidos por tres mecanismos distintos (Drevon, 1993): a) a través de la lipoproteinlipasa que hidroliza los triglicéridos procedentes del intestino convirtiéndolos en ácidos grasos y monoglicéridos, así se transfieren los ácidos grasos y el tocoferol a los tejidos, b) simultáneamente, el exceso de componentes de la superficie de los quilomicrones, es transferido a las HDL, éstas transfieren a su vez a los quilomicrones remanentes apolipoproteína E (apo E). En el hígado existen receptores específicos para esta apolipoproteína y así se produce una rápida captación de quilomicrones por el hígado. Una vez dentro del hígado, una proteína hepática de unión al α -tocoferol controla la incorporación de la vitamina E a las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) hepáticas (Kayden, 1993). El α -tocoferol pasa a la corriente sanguínea unido a las VLDL recién formadas (Bjorneboe, 1986, Traber, 1988). Luego la lipoproteinlipasa hidroliza las VLDL liberando ácidos grasos y tocoferol que pasa a los tejidos y produciendo LDL; c) algunas LDL intercambian tocoferoles con las HDL, mientras otras liberan tocoferol a los tejidos a través de un receptor de la apolipoproteína B (apo B) de las LDL (Cohn, 1989, Kaplowitz, 1989; Burton 1993).

La mayoría del α -tocoferol se acumula en el hígado (75% en células parenquimatosas y 25% en células no parenquimatosas), aunque también lo hace en otros tejidos como el tejido adiposo y el músculo estriado (Machlin, 1980).

El α -tocoferol se encuentra en las fracciones celulares más ricas en membranas, tales como las mitocondrias y en el retículo endoplasmático (Cohn, 1992). Una proteína de transferencia del α -tocoferol en los hepatocitos podría ser crucial para el almacenamiento de esta vitamina en las lipoproteínas hepáticas (Kuhlenkamp, 1993, Arita, 1995), pero parece que la actividad de transferencia del α -tocoferol por parte de esta proteína sólo se manifiesta cuando hay un estado carencial de vitamina E (Verdon, 1988). Podría ser que otros tejidos como el endotelial, cardiaco, aórtico o el músculo liso tuviesen proteínas de transferencia del α -tocoferol a lugares específicos dentro de la célula (Nalecz, 1992, Dutta - Roy, 1993).

5.4.4. Excreción

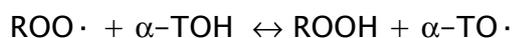
La vitamina E es excretada por las heces vía biliar, mayoritariamente en su forma libre, aunque también se excretan sus formas oxidadas (ácido tocoferónico, tocoferil-quinona y

tocoferonolactona). El principal producto de oxidación hepática del α -tocoferol es la α -tocoferilquinona. Este producto posteriormente es reducido a la hidroquinona, la cual puede conjugarse con el ácido glucurónico y excretarse en la bilis o degradarse a ácido α -tocoferólico, conjugarse y eliminarse por la orina (Drevon, 1993).

5.5. Funciones

Los tocoferoles actúan como antioxidantes tanto “in vivo” como “in vitro” (Diem, 1975, Burton, 1983, Romero, 1992,). Son los principales antioxidantes liposolubles del organismo (Benzie, 1996). La vitamina E pertenece al grupo de antioxidantes que actúan en la “fase de propagación”, de la peroxidación lipídica, rompiendo la cadena de reacciones de la peroxidación.

La acción antioxidante de la vitamina E se debe a una serie de mecanismos moleculares. Se produce una sustitución del hidrógeno de los tocoferoles (α -TOH) por un radical peroxi (ROO) formándose un hidroperóxido lipídico (ROOH). Este radical formado es más estable a causa del anillo aromático, evitando así la propagación de la peroxidación (Doba, 1984). Se produce así una acción amortiguadora de los radicales no lipídicos (Roberts, 1987).



La vitamina E protege principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados situados en las membranas biológicas donde también se encuentra la vitamina E (Giasuddin, 1981, Urano, 1990). Se ha visto en casos de déficit, como la membrana del eritrocito no sólo se destruye con cierta facilidad, sino que además exhibe alteraciones morfológicas, posiblemente causadas por interacciones de las proteínas que se alojan en la matriz lipídica que constituye la propia membrana (Linder, 1985). Se cree que se sitúa por debajo de la membrana (Aranda, 1989, Fukuzawa, 1993). Además de actuar frente a los ácidos grasos, la vitamina E protege de la oxidación a enzimas, proteínas, moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA) (Fraga, 1989, Packer, 1991), y a la vitamina A, carotenos y a otras sustancias portadoras de grupos "tiol" (Leboulanger 1981, Subramanian 1986, Sies 1992). A pesar de tener una pequeña concentración molar en las membranas, la vitamina E es el principal antioxidante liposoluble que actúa interrumpiendo la peroxidación en cadena (Burton, 1989). El α -tocoferol está localizado en las regiones de la membrana con AGPI.

La vitamina E captura radicales peroxilo con una avidez 10000 veces mayor que la capacidad que tienen estos radicales de atacar a los ácidos grasos (Bloomgarden, 1997).

Debido a que la vitamina E se encuentra en una concentración muy baja existen moléculas que actúan regenerando o impidiendo la oxidación del tocoferol. Existen una media de seis moléculas de α -tocoferol por cada molécula de lipoproteína de baja densidad (LDL) (Esterbauer, 1992). Su acción antioxidante se ve aumentada por la acción regeneradora de otras sustancias como la vitamina C que se encuentra en plasma (Packer 1992, Bloomgarden, 1997). Debido a la hidrosolubilidad de la vitamina C es un buen antioxidante cuando los radicales se generan en medio acuoso, pero es mucho menos efectiva cuando los radicales se producen en la membrana (Doba, 1985, Chen, 1989). Se produce así una acción sinérgica entre las vitaminas E y C gracias a la capacidad de la vitamina C de reducir el radical tocoferoxi de nuevo a α -tocoferol en la interfase, regenerando la vitamina E, e incrementando de este modo la efectividad de la misma (Packer, 1979, NIKI, 1985, Chen, 1989, May, 1996). Por su parte, la vitamina C oxidada puede ser reducida por los grupos tiol de las proteínas, el glutatión y posiblemente el ácido úrico (Sevanian, 1991, Meister, 1992).

Estudios de diversos laboratorios han demostrado que la forma reducida del ácido lipoico (dihidrolipoato) incrementa la capacidad del ascorbato para reciclar la vitamina E reduciendo los radicales ascorbilo generados en el curso de la oxidación del ascorbato por los radicales de α -tocoferol (Kagan, 1992).

Se ha visto en animales que el glutatión reducido (GSH), presente en las células, previene el consumo de tocoferol en hepatocitos y eritrocitos y probablemente en todos los tejidos del organismo (Horinaka, 1992; Sies, 1992). También el β -caroteno no puede reciclar la vitamina E en las LDL pero el mismo puede ser protegido de la oxidación por el tocoferol (Kagan, 1992). Otros sistemas como la coenzima Q10 reducido, el citocromo C, o el NADH-citocromo B5 son capaces de actuar como antioxidantes del α -tocoferol (Maguire, 1992, Constantinescu 1993, Crane 1997).

Estudios basados en la acción antioxidante de la vitamina E han demostrado una reducción en la incidencia de preeclampsia en mujeres de riesgo, así como mejoría en los índices bioquímicos de esta enfermedad mediante la

suplementación con vitamina C (1000 mg/d) y vitamina E (400 UI/d) (Chappel, 2002).

La demostración “in vitro” de que la vitamina C y vitamina E pueden proteger a la membrana fetales (corion y amnios) del estrés oxidativo, ha llevado a plantear a determinados autores la posibilidad del uso de suplementos de estas vitaminas para la prevención de la rotura prematura de membranas en mujeres de riesgo (Woods, 2001).

Recientemente, se ha demostrado que existe una relación entre la capacidad antioxidante total de la leche humana y las concentraciones de Coenzima Q10, α - y γ -tocoferol, que a su vez es mayor en leche de madres de recién nacidos a término que de recién nacidos prematuros. Esta capacidad antioxidante va disminuyendo conforme se avanza la lactancia (Quiles, 2006).

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS



JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La leche humana de mujeres sanas y bien nutridas es el método ideal para alimentar a los recién nacidos sanos. Los nutrientes que aporta la leche humana permiten un adecuado crecimiento y desarrollo del bebé.

Los lípidos de la leche humana representan la mayor fuente de energía para el bebé alimentado al pecho y son fuente de nutrientes esenciales como las vitaminas liposolubles y los ácidos grasos poliinsaturados.

Los ácidos grasos esenciales, ácido linoléico y α -linolenico (LA y ALA) son precursores de ácidos grasos poliinsaturados de

cadena larga incluyendo el ácido araquidónico (AA) y el docosahexaenoico (DHA) (Koletzko, 2001b). Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL) aportados mediante la leche humana se han relacionado con el desarrollo de diferentes funciones tales como la capacidad visual o el desarrollo cognitivo durante el primer año de vida. Estudios recientes con isótopos estables indican que la mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados en la leche humana no se derivan directamente de la dieta materna, pero son liberados de los depósitos maternos (Koletzko, 1999).

Así pues, no sólo la ingesta dietética durante la lactancia, sino también el estado nutricional de la madre antes y durante la gestación derivado de una adecuada ingesta de nutrientes, van a tener una marcada relevancia sobre la composición lipídica de la madre.

Recientes estudios han demostrado que la suplementación con DHA en madres lactantes determina un incremento plasmático y en la leche humana de este ácido graso esencial, y a su vez provoca un incremento en las concentraciones plasmáticas del bebé (Jensen, 2000).

Por otra parte, es bien conocido que durante la gestación y la lactancia las necesidades nutricionales están incrementadas. El periodo de lactancia se ha descrito como uno de los ciclos biológicos que cursa con un estrés fisiológico más alto, en el que se observa un importante incremento de los requerimientos de proteínas y de energía para producir la leche. Sin embargo, después de diversas investigaciones, está generalmente bien aceptado que el almacén de energía en forma de grasa durante el embarazo puede proveer una tercera parte del coste energético de la lactancia durante los primeros 3 meses (Taylor, 1983). Al igual que durante el embarazo, el balance de ácidos grasos durante la lactancia está determinado, así como el riesgo de depleción de n-3-AGPI-CL, se complica con la biodisponibilidad de la madre para proveer a su hijo a través de la leche n-3 AGPI-CL desde sus depósitos y mediante la síntesis endógena.

Makrides et al. (Makrides, 2000) han comprobado como durante la lactancia, la madre pierde alrededor de 70-80 mg de DHA/día a través de la leche, además del incremento de la oxidación lipídica o de aquellos que son utilizados por la propia mujer para subvenir a sus necesidades incrementadas. En el caso de aquellas mujeres que recuperan la menstruación durante la época de lactancia, ésta también va a ser fuente de pérdidas de

DHA. Para obtener un balance positivo de DHA, hay que considerar la ingesta dietética (60–70 mg de DHA/día), la síntesis endógena, el DHA disponible de los depósitos y el DHA ahorrado por la amenorrea.

Los carotenoides son una de las mayores fuente de vitamina A para la leche humana y pueden contribuir sobre el efecto inmuno protector de la leche de mujer. En países en vías de desarrollo se ha observado una baja ingesta de retinol y β -carotenos en mujeres no suplementadas (660 equivalentes de retinol/día) lo que supone menos de la mitad de los que ingieren las mujeres en países industrializados (1540 equivalentes de retinol/día), que a su vez son menores que los recomendados para mujeres lactantes (850 equivalentes de retinol/día) (Newman, 1994). Recientes estudios han demostrado que los suplementos con β -carotenos a la madre lactante va a determinar incrementos en las concentraciones de vitamina A en la leche humana y por tanto, una mejor oferta de este nutriente a su hijo (Canfield, 1998). Sin embargo, el estudio realizado por Gossage et al. (Gossage, 2002) comprueban que los suplementos con β -caroteno durante la lactancia no modifica de forma significativa las concentraciones en la leche humana de β -caroteno ni de

otros carotenoides, ni tampoco incrementa los niveles de retinol ni de α -tocoferol.

Ante la controversia aún existente en relación con los resultados publicados hasta el momento en la literatura, el presente estudio tiene los siguientes *objetivos*:

1º.- Determinar la concentración de ácidos grasos poliinsaturados y vitaminas liposolubles en leche de madres lactantes andaluzas.

2º.- Evaluar la evolución de la composición en ácidos grasos poliinsaturados y de vitaminas A y E desde la leche calostrál hasta la leche madura.

3º.- Estudiar la ingesta dietética de nuestra población y determinar las deficiencias en la ingesta de macro y micronutrientes respecto a las recomendaciones diarias admisibles más actualizadas.

4º.- Analizar la influencia de la dieta materna sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados y las vitaminas liposolubles A y E en leche calostrál, leche de transición y leche madura de madres lactantes de nuestra región.

HIPÓTESIS DE TRABAJO:

1^a.– La leche humana va adaptando su composición en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en función de las necesidades del bebé.

2^a.– La dieta materna durante la lactancia es uno de los factores que influyen sobre la composición lipídica de la leche humana tanto calostrual, como de transición y madura.

3^a.– A pesar de estar en una zona donde la dieta se considera “Mediterránea”, las madres andaluzas realizan una ingesta deficiente en algunos nutrientes esenciales para su bienestar y sobre todo para la composición de la leche con la cual van a lactar a sus bebés.

MATERIAL Y METODOS



MATERIAL Y METODOS



1. Casuística:

Se estudian un total 100 muestras de leche humana procedente de 29 madres aparentemente sanas, no diabéticas, sin patología pre- o postconcepcional y sin complicaciones durante el embarazo, y cuya gestación finalizó a término (semanas 37 y 40 de gestación) de forma satisfactoria, y que estuvieron lactando a sus bebés al menos durante dos meses. De las 100 muestras obtenidas, 34 fueron de leche calostrual (0-6 días postparto: 4.034 ± 1.16 días -media \pm DS-), 32 fueron de leche de transición (7-12 días postparto: 11.00 ± 1.39 días), y 34 de leche madura (35-45 días postparto: 27.06 ± 7.08).

La edad materna estuvo comprendida entre los 17 y 37 años, y el 46% de ellas fueron primíparas. Ninguna de ellas tomó suplementos de vitaminas A o E durante la lactancia y ninguna de ellas era fumadora.

Método para la evaluación nutricional

Para conocer los hábitos alimentarios de las madres lactantes participantes en el estudio y en el momento de la obtención de la muestra, a las madres se les realizó una encuesta nutricional de registro de 24 horas los tres días anteriores a la toma de la muestra.

Programa informático y tablas de composición de alimentos.

La evaluación de las encuestas se realizó mediante un programa informático desarrollado por Suárez-López (Suárez-López, 1993), que transforma los alimentos en sus correspondientes nutrientes y el cual contiene todas las recetas de los platos elaborados. Se basa en un programa DBASE IV (1990) que gestiona una base de datos con las tablas de composición de alimentos de Wander, que incluye las tablas de composición de alimentos españolas (Jiménez-Cruz, 1990). De este modo se conocen así los valores de energía, macronutrientes y micronutrientes consumidos por cada mujer

en cada uno de los períodos estudiados. Esto permite conocer y comparar si la ingesta diaria de las mujeres se encuentra en el rango óptimo considerado por las tablas de ingesta de RDA para este periodo (RDA, 2002) (Tabla XLI).

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Vicerrectorado de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada. Todas las madres fueron invitadas a participar en el estudio tras explicarles muy bien en qué consistía, y cada una de ellas firmó el modelo de consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética citado.

Recogida de muestras

La leche materna se recogió al inicio y al final de la ingesta del bebé en cada pecho, y durante todo el día, para minimizar los efectos del ritmo diurno de secreción sobre la composición de la leche (Lammi-keefe et al. 1990). Después de la extracción, cada muestra se depositó en tubos opacos para ser protegida frente a la luz y se congeló a -20°C . Al final del día, todas las muestras de una misma madre se mezclaron y fueron congeladas a -80°C hasta el momento de su análisis.

2. Análisis bioquímico

2.1 *Técnica para la determinación ácidos grasos poliinsaturados en leche humana* (Lepage, 1986; López-López, 2001).

Fundamento:

La composición de ácidos grasos en leche materna fue determinada siguiendo una modificación del método directo descrito por Lepage (Lepage, 1986), que consiste en la transesterificación y extracción en un paso de muestras secas congeladas.

Instrumentación:

- Cromatógrafo de gases de Hewlett-Packard Serie 5890 Series II GC (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) con detector de ionización de llama.
- Columna de sílice fundido SP-2380, con espesor de 0,20 μm .

Material:

- Agitador vibratorio.
- Micropipetas automáticas.
- Centrifuga.
- Tubos eppendorf.
- Microjeringa para cromatografía de 50 μl .

Reactivos:

Acetil clorina; Metanol; Ácido heptadecanoico (C17:0) (Fluka, Busch, Switzerland); Helio.

Preparación de las muestras:

Los metil-ésteres fueron separados por cromatografía de gases de Hewlett-Packard Serie 5890 Series II GC (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) con una columna de sílice fundido SP-2380 de 0.25 mm x 60m, con espesor de membrana de 0,20 µm (90% biscianopropil-10% cianopropilfenilsiloxane; Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA).

Se transesterificaron 100 µl de leche con acetil clorina en metanol y patrón interno (C17:0) (Fluka, Busch, Switzerland).

1. Detector: detector de ionización de llama
2. Temperaturas de inyector y detector: 250°C y 300°C, respectivamente.
3. Gas portador: helio con flujo lineal de 20,7 cm/s.
4. Programa: la temperatura inicial es de de 160° C durante 2 min., aumenta 4° C/min hasta 240° C que se mantiene durante 3 min.
5. Volumen de inyección 1 mL (con autoinyector).
6. Procesador de datos: centro de datos para EI-EM/EM.

Los ácidos grasos fueron identificados por comparación en los tiempos de retención con los de los estándares auténticos (Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA). El contenido de los ácidos grasos se expresó como porcentaje (wt/wt) del total de ácidos grasos, porque de esta manera, se refleja mejor la composición en ácidos grasos esenciales que cuando se intentan determinar las concentraciones absolutas en plasma y en leche humana (Decsi, 1995).

2.2 Técnica para la determinación de vitaminas A y E en leche humana (González–Corbellá, 1994).

Fundamento:

Para la determinación de vitaminas A y E en leche humana se utiliza un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa con un detector ultravioleta a 292 nm de longitud de onda.

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es el método analítico más utilizado para la cuantificación de las vitaminas liposolubles. Tiene la capacidad de cuantificar a los analitos sin ser necesaria una derivación de estos y puede

utilizar diferentes detectores en función de sus requerimientos. Igualmente, puede confirmar la estructura de los analitos y diferenciar entre estructuras similares cuando se acopla a espectrometría de masas (cromatografía líquida/espectrometría de masas, LC/MS). Las dos técnicas más importantes de HPLC son la cromatografía en fase normal y en fase de reserva. La cromatografía líquida de alta eficacia en fase de reserva presenta una serie de ventajas a la de fase normal:

- Menor sensibilidad a los cambios de los tiempos de retención debido a la presencia de agua.
- Mayor facilidad para eliminar los posibles contaminantes.
- Mayor estabilidad ante pequeños cambios de la fase móvil.
- Se equilibra más rápidamente cuando se producen cambios de la fase móvil facilitando la utilización de gradientes.
- Mayor capacidad de determinar compuestos con un amplio rango de polaridades (Ye y Eitemmiller, 2004)

En contraposición la cromatografía en fase normal permite la separación de los isómeros β y γ tocoferoles, así como los isómeros de posición de los tocotrienoles.

Instrumentación

Sistema cromatográfico de HPLC formado por una bomba cuaternaria de baja presión HP-1050 con horno. Inyector Rheodyne con un loop de volumen constante de 100 μ l. Detector de "Diode array" 1040 M. Estación de datos cromatográficos HPLC ChemStation. Impresora HP Thinkjet.

Columna de fase reversa C18 del tipo Spherisorb ODS-2 de 250x4.6 mm, de un tamaño de partícula de 5 μ m.

Material:

- Agitador vibratorio.
- Micropipetas automáticas.
- Centrifuga.
- Tubos eppendorf.
- Microjeringa para cromatografía de 50 μ l.

Reactivos:

- 1- α -tocoferol, acetato de α -tocoferol y pirogalol (1,2,3-trihidroxibenceno) suministrados por SIGMA (St.Louis, MO, USA).
- 2- EDTA suministrado por FLUKA (Buchs, Switzerland).
- 3- Cloruro sódico de PROBUS (Badalona, España).

4- Metanol y etanol para HPLC de SCHARLAU (Barcelona, España).

5- N-hexano para HPLC de SDS (Peypin, Francia).

6- Dietileter para HPLC de PANREAC (Barcelona, España).

Preparación de las muestras:

Para determinar el α -tocoferol por HPLC se debe efectuar una serie de pasos previos. Para extraer esta vitamina liposoluble se han utilizado métodos directos, sin saponificación previa.

1) Partimos de 100 μ l de leche humana + 50 μ l del patrón interno 100 μ g/ml de acetato de α -tocoferol en etanol o de retinol en su caso.

2) 50 μ l de etanol frío: precipita las proteínas.

3) 100 μ l de hexano: para romper el precipitado de lipoproteínas (agitando de forma regular durante un minuto).

4) Centrifugamos a 3000 r.p.m. durante 5 minutos.

5) Separar la fase acuosa de la orgánica (superior);

6) Colectar la fase orgánica con el objeto extraer completamente el α -tocoferol (repetir pasos 3-6).

7) Evaporar el hexano bajo corriente de nitrógeno y redissolver el extracto orgánico con 100 μ l de metanol.

Cuantificación por cromatografía líquida de alta eficacia

Condiciones cromatográficas:

- Fase móvil: metanol.
- Flujo: 1 ml/min.
- Temperatura del horno: 50 °C.
- Detección: 292 nm (detector de “Diode array”). Es la longitud de onda en la que la vitamina E presenta el máximo de absorción.
- Volumen de inyección: 50 µl.
- Tiempo de análisis: 10 min.

De cada muestra inyectada obtenemos un cromatograma en el cual el área de cada pico es proporcional a la concentración de cada componente. A partir de este cromatograma se obtienen los picos de α -tocoferol, de retinol (solamente en plasma) y de acetato de α -tocoferol [patrón interno (SI)].

Integración:

Type: tipo de integración 

BB: Línea base-base

BV: Línea base-valle

Initial Area Reject: área mínima a través de la cual se empieza a

integrar un pico.

Initial Peak Width: anchura mínima del pico.

Initial Threshold: sirve para afinar la integración, marcándole lo que se considera ruido de fondo.

Integrator OFF-ON: intervalo de tiempo durante el cual no se integra.

Para la cuantificación del método se ha escogido la calibración con patrón interno ya que de este modo se eliminan los posibles errores existentes durante el proceso de manipulación de la muestra y los debidos a cambios de las condiciones cromatográficas. Otra ventaja es que los resultados son independientes del volumen de muestra inyectado.

3. Análisis estadístico

El primer paso para la realización del tratamiento estadístico es la creación de una base de datos. En el caso de la presente Tesis se ha creado un archivo de datos con cada una de las variables medidas para cada tipo de leche estudiada (calostro, transición y madura). Las variables corresponden a los contenidos de los diferentes nutrientes en la dieta materna y las concentraciones de ácidos grasos, vitaminas A y E etc en la leche materna para cada tipo de leche.

Para el análisis de los datos obtenidos en el presente estudio, se realizó un test de rechazo de observaciones extremas. Posteriormente, se procedió a un análisis descriptivo de los resultados (media, mínimo, máximo, desviación estándar, SEM) y los tests de normalidad. A continuación se realizaron los tests paramétricos y no paramétricos, utilizando para ello el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) en su versión 13.0 para Windows. Previamente los datos se introdujeron en un archivo de datos de extensión.sav para poder ser tratados por dicho paquete SPSS.

Los procedimientos para analizar dichos datos han sido los siguientes:

Primera Fase del Estudio

En primer lugar se ha aplicado para cada variable cuantitativa continua y cada grupo el test de normalidad de Shapiro–Wilk (para muestras con $n < 50$) y Kolmogorov–Smirnov, dentro del módulo de EXPLORAR. En nuestro caso se han tenido en cuenta los resultados del test de Shapiro–Wilk dado que las submuestras establecidas por cada tipo de leche tienen menos de 50 observaciones. Si dicho test nos da significativo indica que, en la población de la cual procede la muestra considerada, la variable

estudiada no sigue la distribución normal. En estos casos, una posible solución es aplicar alguna transformación a los datos tal como logaritmos, raíz cuadrada etc. que logre normalizar los datos, o bien en caso de no encontrar la transformación adecuada aplicar procedimientos no paramétricos para estudiar las cuestiones planteadas acerca de esas variables no normales.

Segunda Fase del estudio: ESTADISTICA INFERENCIAL

Un primer tipo de análisis se ha aplicado utilizando, dentro de “Analizar” el módulo de modelo lineal general (medidas repetidas). En primer lugar cuando solicitamos éste análisis se nos proporciona un cuadro con los valores descriptivos (media, desviación estándar y tamaño de muestra), de cada combinación de tipos de leche (calostro, transición y leche madura) y tanto en la medida inicial como final de dicha variable. Asimismo, se nos da un intervalo de confianza al 95% para cada media.

Una vez realizado el análisis de la varianza se solicita que nos realice las comparaciones múltiples entre los distintos niveles del tipo de leche calostrado, de transición o madura.

Se ha solicitado la prueba de Bonferroni al ser los tamaños

muestrales desiguales entre los tipos de leche. También se pidió el test de Tahmane para aquellos casos en que las varianzas resultaron desiguales. Al solicitar dichas pruebas además de señalar entre qué medias existe significación se nos proporciona el valor de la diferencia de las medias comparadas, el error típico de la diferencia y la significación (valor p) y de igual forma un intervalo de confianza para la diferencia de medias, lo que nos informa acerca de la magnitud de dicha diferencia.

Para el análisis de correlación se han realizado correlaciones bivariadas de Pearson. Así mismo, también se ha utilizado el coeficiente de correlación de Spearman para contrastar el posible grado de asociación entre dos variables cuando no resultaron normales tras la aplicación de diferentes correctores como Ln, raíz cuadrada, arcoseno,...

Para estudiar si los contenidos de los diferentes nutrientes en la dieta influyen en las concentraciones de los mismos en la leche materna (para cada uno de los tres tipos) se ha aplicado el procedimiento de Regresión Múltiple paso a paso considerando como variables independientes los contenidos en g en la dieta de vitaminas, proteínas, minerales, ácidos grasos... y como variable dependiente, para cada análisis efectuado, las concentraciones de

vitaminas, ácidos linoleico y linolénico y su cociente, araquidónico y DHA y su cociente estableciendo, en cada caso, el modelo que mejor sea capaz de predecir los valores de cada variable analizada en función de las variables independientes introducidas. Los modelos obtenidos y sus correspondientes correlaciones aparecen reflejados en las tablas de resultados.

También y teniendo en cuenta las tablas de valores normales de cada variable se han establecido puntos de corte para estudiar si un nivel bajo o alto de algún nutriente en la dieta materna da como resultado un nivel bajo o alto en la leche del mismo, estableciendo las medidas de asociación oportunas con sus correspondientes intervalos de confianza.

Para ver cómo influyen los distintos contenidos de grasa y vitaminas liposolubles tanto en la dieta como en la leche materna se ha utilizado una técnica de regresión logística, estudiándose los correspondientes exponenciales de los coeficientes (odds ratio).

En todos los tests aplicados un resultado se considera significativo y por tanto indicativo de que podemos concluir que existe diferencia entre las poblaciones estudiadas cuando el valor

P (nivel de significación) sea inferior ó igual a 0,05, considerándose muy significativo cuando P sea menor que 0.01 y altamente significativo si P es menor que 0,001. Cuando no hay significación pero P está comprendido entre 0,05 y 0,15 lo indicaremos como que aunque haya dado no significativo, existen “indicios de significación”. En este último caso la no significación puede ser debida a un insuficiente tamaño de muestra y sería conveniente repetir el estudio con un n^o superior de sujetos.

La representación gráfica se obtuvo mediante los programas de Microsoft Excel 2003, Microsoft Powerpoint 2003 y el paquete estadístico SPSS 13.0.

RESULTADOS



RESULTADOS



1. Análisis descriptivo.

1.1. Ingesta dietética en las madres lactantes en los tres momentos de estudio.

En las tablas X, XI y XII, quedan reflejados los datos descriptivos obtenidos del análisis de la ingesta realizada por las madres lactantes participantes en el estudio, mediante un registro de consumo de 24 horas los tres días anteriores a la recogida de muestra.

Tabla X.- Ingesta dietética materna durante el periodo de secreción de leche calostrál

	Mínimo	Máximo	Media	DES
Energía (Kcal/d)	1934,09	3755,79	2400,22	373,83
Proteínas (g/día)	85,24	200,04	115,84	29,96
H.C (g/día)	228,9	463,88	290,27	40,42
grasas (g/día)	55,21	110,07	72,17	14,32
AGS (g/día)	11,16	26,36	17,49	3,31
AGMI (g/día)	15,30	45,52	28,02	7,23
AGPI (g/día)	6,88	26,19	12,54	4,70
Grasas (%)	23,12	32,99	26,94	2,52
AGS (%)	4,20	8,92	6,65	1,26
AGMI (%)	5,78	13,42	10,43	1,81
AGPI (%)	7,3	14,99	9,86	1,51
Colesterol (mg/día)	172,07	519,28	345,31	73,74
Vit. E (mg/día)	6,01	13,45	8,22	1,78
Vit. A (µg/día)	493,35	1744,99	916,49	245,41
Vit. C (mg/día)	65,12	137,68	96,66	19,32
Vit. E/AGPI	0,28	0,99	0,69	0,15
Hierro (mg/día)	12,83	20,77	16,06	2,25
Fibra (g/día)	14,12	39,09	20,44	5,89
Zinc (mg/día)	7,91	14,07	10,23	1,50

DES: Desviación estándar; Kcal: Kilocalorías; HC: Hidratos de Carbono; AGS: Ácidos grasos saturados; AGMI: Ácidos grasos de cadena media; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados; Vit: Vitamina.

Tabla XI.- Ingesta dietética materna durante el periodo de secreción de leche de transición

	Mínimo	Máximo	Media	DES
Energía (Kcal/d)	1594,48	3529,18	2242,31	314,81
Proteínas (g/día)	52,27	156,10	113,79	17,99
H.C (g/día)	127,94	529,92	229,61	63,34
grasas (g/día)	69,64	143,53	97,18	13,15
AGS (g/día)	19,09	49,91	29,43	5,55
AGMI (g/día)	26,68	55,98	36,97	6,08
AGPI (g/día)	4,49	24,15	14,19	3,24
Grasas (%)	34,45	47,70	39,23	2,77
AGS (%)	8,22	19,77	12,12	2,49
AGMI (%)	9,05	20,46	14,98	1,88
AGPI (%)	8,98	19,34	12,12	1,65
Colesterol (mg/día)	185,29	745,67	444,31	94,44
Vit. E (mg/día)	3,62	15,74	7,07	2,09
Vit. A (µg/día)	508,30	1760,62	1071,15	253,27
Vit. C (mg/día)	34,12	404,28	152,81	71,82
Vit. E/AGPI	0,25	1,19	0,516	0,16
Hierro (mg/día)	6,88	23,63	12,92	2,72
Fibra (g/día)	2,91	23,91	13,54	3,71
Zinc (mg/día)	5,31	13,92	8,86	1,72

DES: Desviación estándar; Kcal: Kilocalorías; HC: Hidratos de Carbono; AGS: Ácidos grasos saturados; AGMI: Ácidos grasos de cadena media; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados; Vit: Vitamina.

Tabla XII.- Ingesta dietética materna durante el periodo de secreción de leche madura

	Mínimo	Máximo	Media	DES
Energía (Kcal/d)	1270,64	3018,73	2046,78	349,98
Proteínas (g/día)	95,64	347,78	203,13	44,27
H.C (g/día)	52,53	189,11	99,80	26,78
grasas (g/día)	38,68	132,31	84,26	17,53
AGS (g/día)	14,45	44,01	25,59	6,29
AGMI (g/día)	12,36	66,82	33,40	8,63
AGPI (g/día)	4,75	20,01	11,74	3,06
Grasas (%)	27,39	46,68	36,77	3,99
AGS (%)	7,40	16,86	11,19	1,83
AGMI (%)	8,76	21,56	14,51	2,25
AGPI (%)	6,80	17,35	11,05	2,5
Colesterol (mg/día)	107,94	1152,48	378,60	165,34
Vit. E (mg/día)	2,16	26,92	7,64	3,97
Vit. A (µg/día)	252,17	3165,70	100,9	476,15
Vit. C (mg/día)	32,67	819,76	175,71	131,26
Vit. E/AGPI	0,18	1,83	0,67	0,31
Hierro (mg/día)	7,91	24,91	12,48	2,94
Fibra (g/día)	7,43	35,33	17,83	5,49
Zinc (mg/día)	3,76	9,72	7,07	1,34

DES: Desviación estándar; Kcal: Kilocalorías; HC: Hidratos de Carbono; AGS: Ácidos grasos saturados; AGMI: Ácidos grasos de cadena media; AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados; Vit: Vitamina.

1.2. *Análisis de la composición en vitaminas A y E y ácidos grasos en leche humana de las madres lactantes andaluzas estudiadas.*

En las tablas XIII a la XL quedan reflejados las concentraciones mínimas, máximas y medias así como las desviaciones estándar de las vitaminas liposolubles (mg/dl) y ácidos grasos determinados en muestras de leche calostroal, leche de transición y leche madura, éstos últimos expresados tanto en porcentaje del total de ácidos grasos, como en $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

1.2.1. Composición en vitaminas A y E y ácidos grasos en leche calostroal.

Tabla XIII - Concentraciones de α -tocoferol y retinol en mg/dl presentes en calostro (n:30).

VITAMINAS	mínimo	máximo	Media	DES
α-tocoferol	0,26	4,93	1,34	0,88
Retinol	0,01	0,6	0,23	0,11
α-tocoferol/Retinol	1,49	97,51	8,91	16,11

Vit: vitamina; DES: desviación estándar

Tabla XIV.- Porcentaje de AGPI del total de ácidos grasos en leche calostroal (n:30).

AGPI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Ac. Linoleico (C18:2n-6)	11,19	22,8	16,24	2,7
AA (C20:4n-6)	0	1,05	0,71	0,17
Ac. Linolénico (C18:3n-3)	0,23	0,56	0,36	0,71
EPA (C20:5n-3)	0,13	0,24	0,18	0,028
DHA (C22:6n-3)	0,27	0,79	0,52	0,12
linoleico/linolénico	31	69	45,88	8,78
AA/DHA	0	2,39	1,41	0,40

DES: desviación estándar; AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico

Tabla XV.- Porcentaje de AGS del total de ácidos grasos en leche calostroal (n:30).

AGS	Mínimo	Máximo	Media	DES
Cáprico (C10:0)	0,15	1,87	0,66	0,34
Láurico (C12:0)	1,48	8,76	3,48	1,69
Mirístico (C14:0)	2,46	8,93	4,72	1,63
Palmítico (C16:0)	17,68	23,94	21,21	1,54
Estearico (C18:0)	4,66	8,20	6,35	0,77
Araquídico (C20:0)	0	0,31	0,19	0,06
Behénico (C22:0)	0	0,67	0,0825	0,11
Lignocérico (C24:0)	0	0,22	0,0988	0,049

DES: desviación estándar; AGS: ácidos grasos saturados

Tabla XVI.- Porcentaje de AGMI del total de ácidos grasos en leche calostrál (n:30).

AGMI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Palmitoleico (C16:1n-9)	0,42	2,17	0,62	0,33
Oleico (C18:1n-9)	28,54	45,88	36,44	3,76

DES: desviación estándar; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

Tabla XVII.- Porcentaje de AG trans del total de ácidos grasos en leche calostrál (n:30).

AG TRANS	Mínimo	Máximo	Media	DES
C14:1trans	0	0,09	0,02	0,02
C18:1trans	0	1,54	0,23	0,47

DES: desviación estándar

Tabla XVIII.- Concentración de AGPI en leche calostrál, expresada como $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (n:30).

AGPI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Ac. Linoleico (C18:2n-6)	27,9	9249,3	3617,8	1981
AA (C20:4n-6)	0	286,9	157,6	67,5
Ac. Linolénico (C18:3n-3)	28,8	166	81,9	28,9
EPA (C20:5n-3)	14,9	109,1	41,2	18,9
DHA (C22:6n-3)	45,9	189,9	110,3	41

DES: desviación estándar; AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

Tabla XIX.- Concentración de AGS en leche calostroal, expresada como $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (n:30).

AGS	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>Cáprico (C10:0)</i>	22,4	370,6	148,7	87,8
<i>Láurico (C12:0)</i>	156,5	2019,7	764,9	445,4
<i>Mirístico (C14:0)</i>	348,7	2327,3	1034,2	516,1
<i>Palmítico (C16:0)</i>	1687,4	9425,4	4710,8	1868,2
<i>Estearico (C18:0)</i>	549,7	2829,9	1411,3	566,2
<i>Araquídico (C20:0)</i>	0	95,1	45,4	22,7
<i>Behénico (C22:0)</i>	0	77,7	18,2	15,4
<i>Lignocérico (C24:0)</i>	0	62,4	22,8	14,4

DES: desviación estándar; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

Tabla XX.- Concentración de AGMI en leche calostroal, expresada como $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (n:30).

AGMI	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>Palmitoleico (C16:1n-9)</i>	44,9	262,1	131,8	55,3
<i>Oleico (C18:1n-9)</i>	2934,8	19246	8284,2	3721,4

DES: desviación estándar; AGS: ácidos grasos saturados

Tabla XXI.- Concentración de AG trans en leche calostroal, expresada como $\mu\text{g} /100\text{ ml}$ (n:30).

AG TRANS	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>C14:1trans</i>	0	25,3	6,2	6,4
<i>C18:1trans</i>	0	261,7	38,4	77,1

DES: desviación estándar

1.2.2. Composición de vitaminas A y E y ácidos grasos en la leche de transición de las madres lactantes andaluzas participantes en el presente estudio.

Tabla XXII.- Concentraciones de α -tocoferol y retinol (mg/dl) en la leche de transición (n:28).

VITAMINAS	Mínimo	Máximo	Media	DES
α-tocoferol	0,20	1,39	0,59	0,25
Retinol	0,04	0,46	0,15	0,085
α-tocoferol/Retinol	1,52	11,01	4,31	1,94

Vit: vitamina; DES: desviación estándar

Tabla XXIII.- Porcentaje de AGPI del total de ácidos grasos en la leche de transición (n:28).

AGPI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Ac. Linoleico (C18:2n-6)	8,8	24,1	15,26	3,78
AA (C20:4n-6)	0,5	0,97	0,66	0,12
Ac. Linolénico (C18:3n-3)	0,31	1,79	0,59	0,29
EPA (C20:5n-3)	0,05	0,23	0,11	0,04
DHA (C22:6n-3)	0,29	0,92	0,53	0,18
linoleico/linolénico	10,35	51,44	28,75	9,32
AA/DHA	0,59	2,26	1,35	0,4

DES: desviación estándar; AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

Tabla XXIV.- Porcentaje de AGS del total de ácidos grasos de leche de transición de las madres andaluzas estudiadas (n:28).

AGS	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>Cáprico (C10:0)</i>	0,55	3,10	1,66	0,57
<i>Láurico (C12:0)</i>	3,00	19,17	7,58	3,19
<i>Mirístico (C14:0)</i>	4,47	20,57	7,56	3,17
<i>Palmítico (C16:0)</i>	15,64	23,33	19,34	2,00
<i>Estearico (C18:0)</i>	4,27	7,49	6,15	0,87
<i>Araquídico (C20:0)</i>	0,07	0,29	0,18	0,04
<i>Behénico (C22:0)</i>	0	0,63	0,14	0,21
<i>Lignocérico (C24:0)</i>	0	0,20	0,05	0,05

DES: desviación estándar; AGS: ácidos grasos saturados.

Tabla XXV.- Porcentaje de AGMI del total de ácidos grasos en la leche de transición (n:28).

AGMI	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>Palmitoleico (C16:1n-9)</i>	0,27	0,61	0,43	0,08
<i>Oleico (C18:1n-9)</i>	17,61	39,73	32,65	4,72

DES: desviación estándar; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados.

Tabla XXVI.- Porcentaje de AG *trans* del total de ácidos grasos en la leche de transición (n:28).

AG TRANS	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>C14:1 trans</i>	0	0,10	0,03	0,02
<i>C18:1 trans</i>	0	2,41	0,16	0,54

DES: desviación estándar

Tabla XXVII.- Concentración de AGPI en la leche de transición, expresados en µg/100 ml (n:28).

AGPI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Ac. Linoleico (C18:2n-6)	1202,5	28884,8	4739,6	4958,1
AA (C20:4n-6)	86,8	272,3	164,9	50,4
Ac. Linolénico (C18:3n-3)	38,6	391	146,6	77,9
EPA (C20:5n-3)	10,2	51,1	26,8	10,5
DHA (C22:6n-3)	65,3	311,3	131,8	60

DES: desviación estándar; AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

Tabla XXVIII.- Concentración de AGS en la leche de transición, expresados en µg /100 ml (n:28).

AGS	Mínimo	Máximo	Media	DES
Cáprico (C10:0)	91,8	931,2	440,5	219,4
Láurico (C12:0)	563,6	4789,5	1977,4	1048,7
Mirístico (C14:0)	839,5	5139,5	1927,5	966,7
Palmítico (C16:0)	2764,4	8566,1	4813,1	1446,8
Estearico (C18:0)	845,9	2659,4	1541,6	527,1
Araquídico (C20:0)	18,3	79,5	46,4	15,7
Behénico (C22:0)	0	29,8	10,9	9,7
Lignocérico (C24:0)	0	39,9	11,4	12,1

DES: desviación estándar; AGS: ácidos grasos saturados

Tabla XXIX.- Concentración de AGMI en la leche de transición, expresados en µg /100 ml (n:28).

AGMI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Palmitoleico (C16:1n-9)	61,9	204,2	106,3	33,1
Oleico (C18:1n-9)	4266,9	16752,2	8191,7	2857

DES: desviación estándar; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

Tabla XXX.- Concentración de ácidos grasos *trans* en la leche de transición, expresados en $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (n:28).

AG TRANS	Mínimo	Máximo	Media	DES
C14:1 <i>trans</i>	0	28,2	8,1	7,6
C18:1 <i>trans</i>	0	464,81	33,7	105,8

DES: desviación estándar

1.2.3. Composición de vitaminas A y E y ácidos grasos en leche madura de las madres lactantes andaluzas participantes en el estudio.

Tabla XXXI.- Concentraciones de α -tocoferol y retinol (mg/dl) en la leche madura (n:23).

VITAMINAS	Mínimo	Máximo	Media	DES
α-tocoferol	0,13	0,98	0,38	0,19
Retinol	0,007	0,21	0,10	0,04
α-tocoferol/Retinol	0,98	52,52	5,72	8,94

DES: desviación estándar; Vit: vitamina

Tabla XXXII.- Porcentaje de AGPI del total de ácidos grasos en la leche madura (n:23).

AGPI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Ac. Linoleico (C18:2n-6)	10,61	25,3	16,59	3,35
AA (C20:4n-6)	0,23	0,75	0,53	0,09
Ac. Linolénico (C18:3n-3)	0,41	2,68	0,75	0,39
EPA (C20:5n-3)	0	0,24	0,09	0,05
DHA (C22:6n-3)	0,15	0,56	0,36	0,096
linoleico/linolénico	7,78	47,94	24,69	8,27
AA/DHA	0,61	2,6	1,56	0,46

DES: desviación estándar, AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

Tabla XXXIII.- Porcentaje de AGS del total de ácidos grasos en la leche madura (n:23).

AGS	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>Cáprico (C10:0)</i>	0,85	3,08	1,63	0,47
<i>Láurico (C12:0)</i>	2,81	9,35	5,97	1,61
<i>Mirístico (C14:0)</i>	3,16	9,13	5,69	1,46
<i>Palmítico (C16:0)</i>	15,43	24,46	19,56	1,98
<i>Estearico (C18:0)</i>	4,60	8,13	6,25	0,99
<i>Araquídico (C20:0)</i>	0,13	0,35	0,19	0,05
<i>Behénico (C22:0)</i>	0	0,09	0,04	0,03
<i>Lignocérico (C24:0)</i>	0	0,14	0,04	0,04

DES: desviación estándar; AGS: ácidos grasos saturados

Tabla XXXIV - Porcentaje de AGMI del total de ácidos grasos en la leche madura (n:23).

AGMI	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>Palmitoleico (C16:1n-9)</i>	0,29	0,58	0,41	0,07
<i>Oleico (C18:1n-9)</i>	26,05	45,62	35,77	4,98

DES: desviación estándar; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados

Tabla XXXV.- Porcentaje de AG *trans* del total de ácidos grasos en la leche madura (n:23).

AG TRANS	Mínimo	Máximo	Media	DES
<i>C14:1 trans</i>	0,85	0,10	0,03	0,02
<i>C18:1 trans</i>	0	1,00	0,06	0,21

DES: desviación estándar

Tabla XXXVI.- Concentración de AGPI en la leche madura, expresados en μg /100 ml (n:23).

AGPI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Ac. Linoleico (C18:2n-6)	2066,6	8708,8	5413	2049,7
AA (C20:4n-6)	57,6	297,6	165,6	55,2
Ac. Linolénico (C18:3n-3)	103,2	556,2	236,5	127,7
EPA (C20:5n-3)	0	63,8	31,6	16,2
DHA (C22:6n-3)	40,9	279,8	112,8	53,7

DES: desviación estándar, AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

Tabla XXXVIII.- Concentración de AGS en la leche madura, expresados en μg /100 ml (n:23).

AGS	Mínimo	Máximo	Media	DES
Cáprico (C10:0)	251,9	965,1	497,4	158,5
Láurico (C12:0)	907,3	3848	1820,2	655,3
Mirístico (C14:0)	922,8	3255	1751,2	588,9
Palmítico (C16:0)	3258,3	12026,8	6194,3	1970,7
Estearico (C18:0)	971,1	4912,3	2037,5	876,9
Araquídico (C20:0)	29,3	206,8	70,1	40,6
Behénico (C22:0)	0	165,6	21,7	33,7
Lignocérico (C24:0)	0	28,8	11,6	9,1

DES: desviación estándar; AGS: ácidos grasos saturados

Tabla XXXIX.- Concentración de AGMI en la leche madura, expresados en μg /100 ml (n:23).

AGMI	Mínimo	Máximo	Media	DES
Palmitoleico (C16:1n-9)	71,9	227,8	130,1	42
Oleico (C18:1n-9)	5872,9	26625,9	11427	4636,4

DES: desviación estándar; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados.

Tabla XL.- Concentración de AG *trans* en la leche madura, expresados en $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (n:23).

AG TRANS	Mínimo	Máximo	Media	DES
C14:1 <i>trans</i>	0	31,8	11,8	9,5
C18:1 <i>trans</i>	0	208,2	13	46,6

DES: desviación estándar

En el estudio descriptivo representado en las tablas XIV a la XL se pone de manifiesto que el ácido graso más abundante en la leche materna en los 3 periodos de la lactancia es el ácido oleico (tanto porcentualmente como expresado como $\mu\text{g}/100\text{ml}$), apareciendo en segundo lugar de importancia, en cuanto a la cuantía, el ácido palmítico, y siendo el ácido linoleico el más abundante dentro de los APGPI.

Estos 3 ácidos grasos, el ácido oleico como ácido graso monoinsaturado, el ácido palmítico como ácido graso saturado y el ácido linoleico como ácido graso poliinsaturado, también constituyen el mayor porcentaje de ácidos grasos presentes en la leche materna, mientras que el resto de los ácidos grasos estudiados en este trabajo suponen una pequeña proporción respecto al total de los ácidos grasos de la fracción grasa.

2. Análisis inferencial

2.1. Ingesta dietética vs Recomendaciones Diarias Admisibles (RDAs, 2002).

Tabla XLI.- Comparación de la ingesta dietética de las madres lactantes participantes en el estudio frente a las Recomendaciones diarias admisibles (RDAs, 2002).

	Ingesta media±SD	Unidades	RDAs, 2002	% madres lactantes con ingesta < RDAs
Energía	2229,5±374	Kcal	2733	94%
Proteínas	109,7±26,3	g	71	6%
H. de Carbono	241,2±61,8	g	210	33%
Grasas	72,17±14,2	g	90	59%
Vitaminas liposolubles				
Vitamina A	994,7±346	µg	1300	88%
Vitamina E	7,6±2,8	mg	19	99%
Vitamina C	141,5±92,8	mg	120	45%
Minerales				
Hierro	13,8±3	mg	9	3%
Zinc	8,7±2	mg	12	94%

SD: desviación estándar; RDA: Recomendaciones diarias admisibles.

En la Tabla XLI queda reflejada la ingesta media energética, de macronutrientes, vitaminas liposolubles y minerales y se comparan con las RDAs. Como se puede observar, el 94% de las madres lactantes participantes en el presente estudio mostraron una ingesta energética inferior a las recomendaciones y una ingesta de proteínas superior a la

recomendada. Un 67% mostró una ingesta superior de hidratos de carbono a la recomendada, y un 40% tomaba una dieta hiperlipídica.

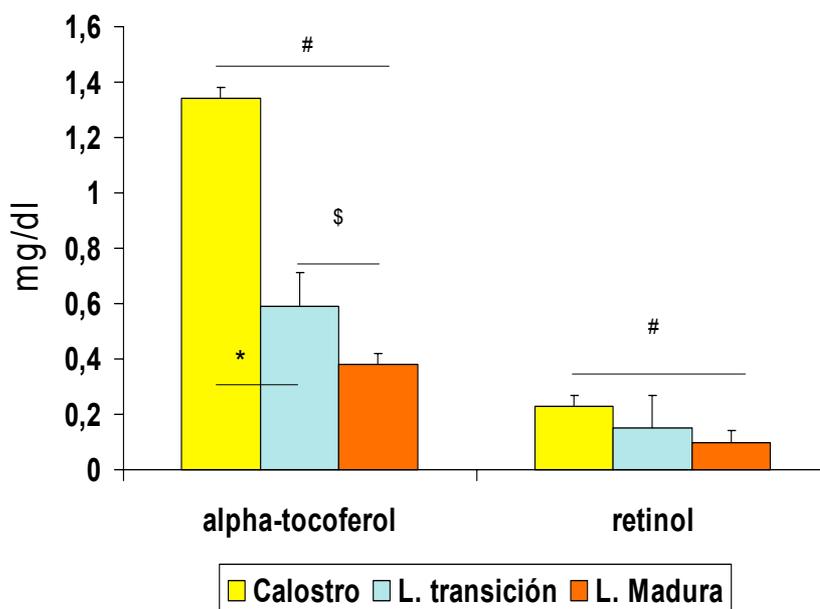
Nótese que el 98% de las mujeres no cubrían las recomendaciones respecto a la ingesta de vitamina E. En el 94% de los casos tampoco se alcanzaban las recomendaciones para el Zinc y en cuanto a la ingesta de hierro cabe destacar que con las nuevas recomendaciones de las RDA de 2002, tan sólo un 3% no cubrirían las recomendaciones para este mineral.

2.2. Análisis de varianza y tests de comparación de medias para variables dependientes, para estudiar las diferencias en las vitaminas A y E y los distintos ácidos grasos analizados según el momento de la lactancia.

2.2.1. Comparación de las concentraciones totales de vitaminas A y E en leche humana y del % de AGPI, AGS, AGMI y ácidos grasos trans del total de ácidos grasos medidos en las distintas fases de la lactancia.

En las Figuras 6–12 quedan reflejadas las diferencias establecidas (*, #, \$: $p < 0.05$) entre los 3 momentos de la lactancia en cuanto a la composición de la leche en vitaminas A y E (mg/dl), así como en ácidos grasos poliinsaturados, expresados como porcentaje del total de ácidos grasos de la leche materna analizada.

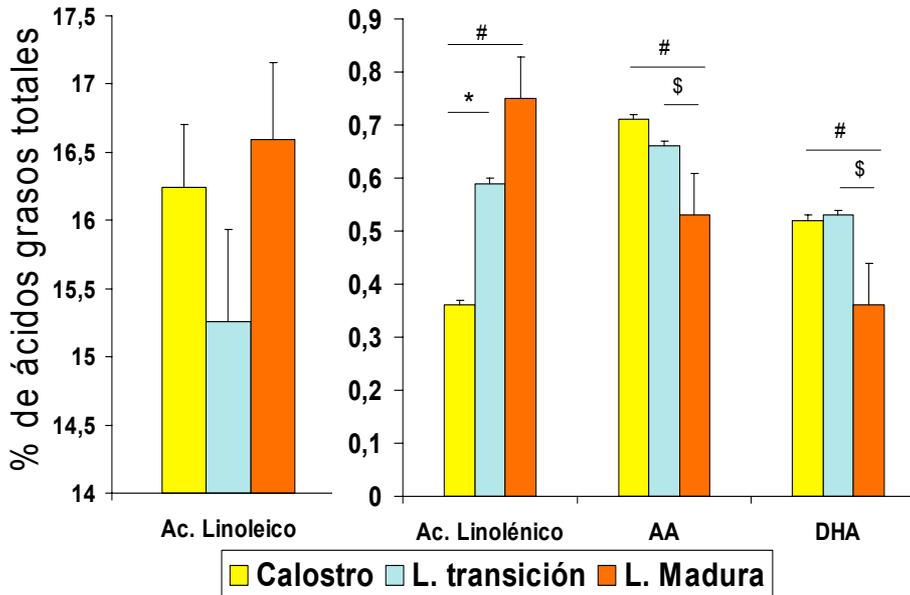
Figura 6- Comparación de las concentraciones medias de las vitaminas A y E (mg/dl) analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de las madres andaluzas participantes en el estudio.



Las concentraciones de antioxidantes no enzimáticos van disminuyendo conforme avanza la lactancia de forma significativa respecto al calostro.

El índice α -tocoferol/retinol no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tres momentos de la lactancia, calostro, leche de transición y leche madura: $8,92 \pm 2,76$, $4,32 \pm 0,34$ y $5,72 \pm 1,53$, respectivamente ($p=NS$).

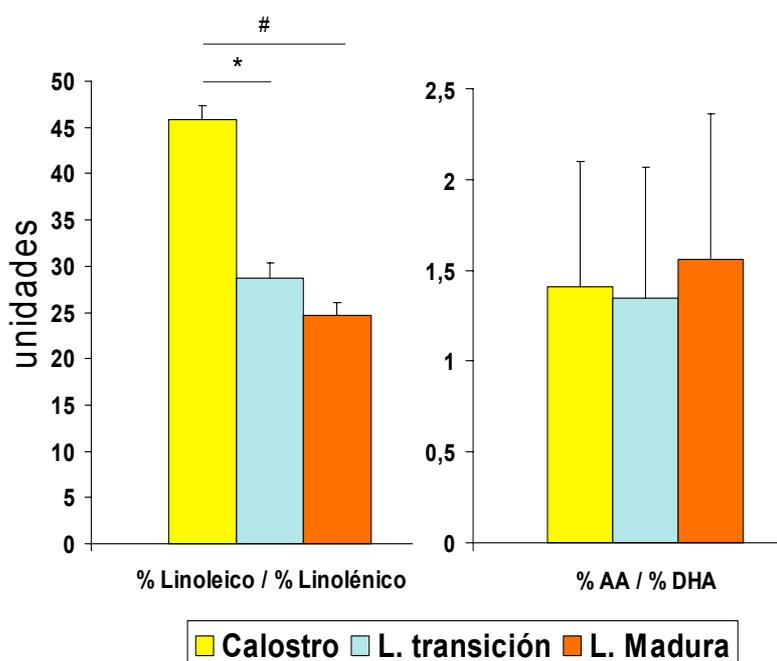
Figura 7.- Comparación múltiple del % de los AGPI del total de ácidos grasos, analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de madres del sur de España.



La concentración media de ácido linolénico va aumentando conforme avanza la lactancia, presentando concentraciones estadísticamente más altas en leche de transición y madura respecto al calostro; en leche madura se duplica la concentración de ácido linolénico respecto a los primeros días de lactancia. Por el contrario, se observa un descenso significativo de los niveles de DHA en leche madura respecto a la leche calostrual y leche de transición. El ácido araquidónico resultante de la desaturación

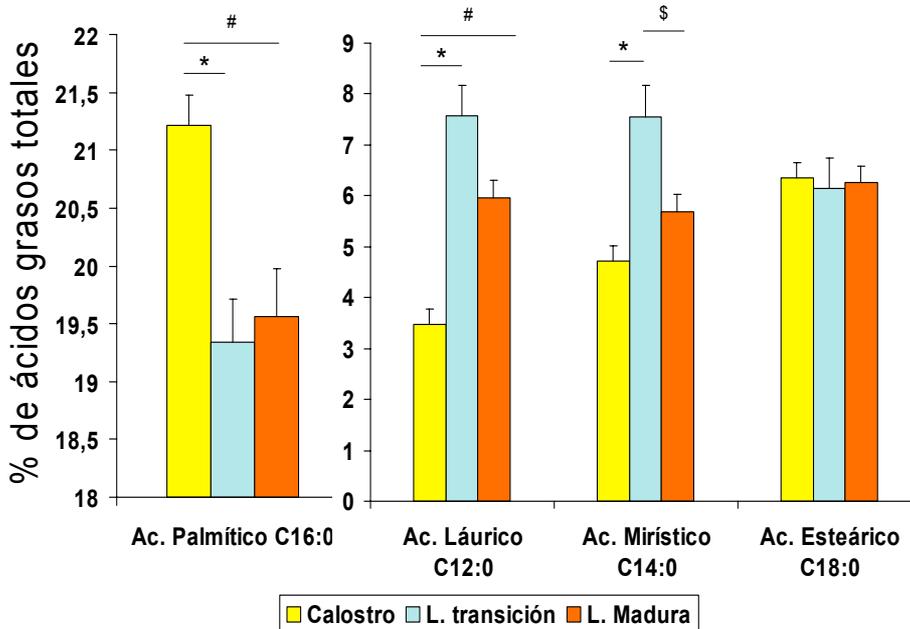
del ácido linoleico sufre también un descenso significativo a lo largo del primer mes de lactancia.

Figura 8.- Comparación de los índices % ác. linoleico / % ác. Linolénico y AA/DHA entre leche calostro, leche de transición y leche madura.



El índice % Ac. Linoleico / % Ac. Linolénico disminuye de forma significativa en la leche madura respecto a la leche calostro; el índice AA/DHA no se modifica desde el calostro a la leche madura, manteniéndose el equilibrio en el aporte de estos dos importantes ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

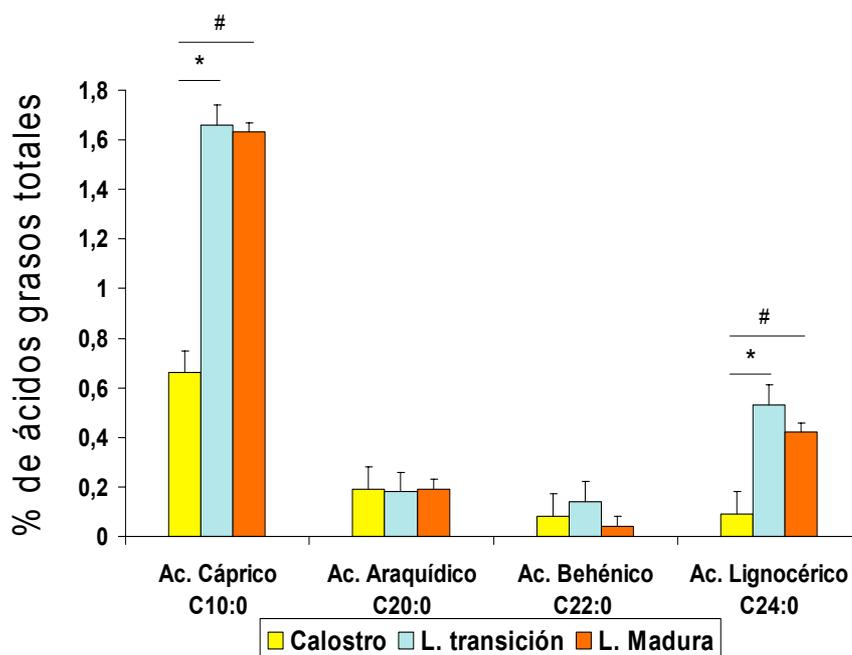
Figura 9.- Comparación del % de ácidos grasos saturados C12:0, C14:0, C16:0 y C18:0 del total de ácidos grasos presentes en calostro, leche de transición y leche madura de las madres lactantes participantes en el estudio.



El ácido Palmítico resultó el ácido graso porcentualmente más importante en la leche humana. En el calostro de las mujeres andaluzas estudiadas estuvo presente en un 21.21% de los ácidos grasos totales en la leche calostrual, para disminuir al 19.34% en la leche de transición y permanecer en una proporción similar en la leche madura (19.56% de los ácidos grasos totales). Por el contrario, el % de C12:0 aumentó de forma significativa en la leche de transición respecto al calostro y se mantuvo significativamente elevado en la leche madura; el % de C14:0

aumentó de forma estadísticamente significativa en la leche de transición para volver a % similares a los de la leche calostroal en la leche madura. El % de C18:0 permaneció entre el 6.35% y el 6.15% de los ácidos grasos totales a lo largo de los tres periodos de lactancia analizados.

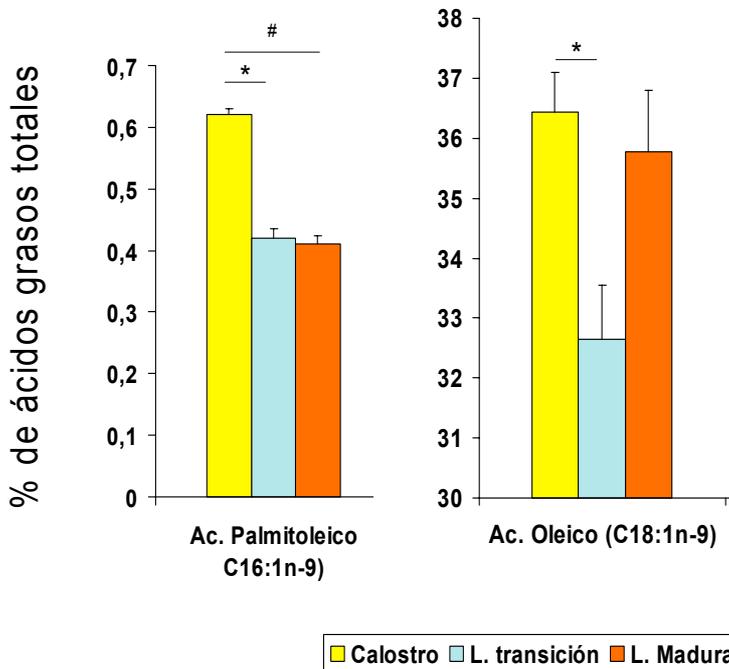
Figura 10.- Comparación del % de ácidos grasos saturados C10:0, C20:0, C22:0 y C24:0 del total de ácidos grasos presentes en calostro, leche de transición y leche madura de las madres lactantes participantes en el estudio.



Los % de C10:0 y de C24:0 del total de ácidos grasos de la leche de madres estudiadas, aumentaron de forma significativa desde la leche calostroal a la leche de transición permaneciendo elevados en la leche madura. El % de C20:0 y C22:0 del total de

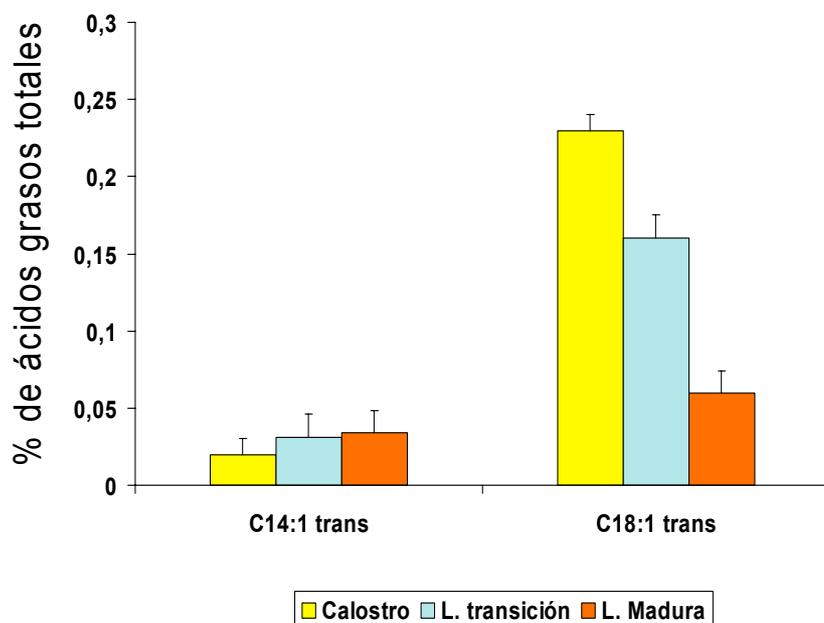
ácidos grasos no se modificó a lo largo de los 3 periodos de lactancia estudiados.

Figura 11.- Comparación múltiple de medias de los AGMI, expresadas como porcentaje del total de ácidos grasos, analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de madres del sur de España.



El porcentaje de ácido palmítico del total de ácidos grasos de la leche calostroal resultó significativamente superior al encontrado en leche de transición y madura. El porcentaje de C18:1n-9 del total de ácidos grasos en leche de transición fue inferior al encontrado en calostro o en leche madura.

Figura 12.- Comparación múltiple de medias, expresadas como porcentaje del total de ácidos grasos, de los AG trans analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de madres del sur de España.



No se demostraron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de ácidos grasos trans C14:1 trans y C18:1 trans del total de ácidos grasos, entre los distintos momentos de la lactancia analizados (Figura 12).

2.2.2 Comparación de las concentraciones totales de ácidos grasos ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) analizados en la leche de las madres participantes en el estudio, según el momento de la lactancia.

En las tablas de la XLII a la XLV quedan reflejadas las diferencias establecidas en la composición de la leche, en cuanto a los ácidos grasos poliinsaturados, saturados, monoinsaturados y ácidos grasos trans, expresados como $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, en los tres momentos de la lactancia.

Tabla XLII.- Comparación múltiple de medias, expresados como $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, de los AGPI analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de madres del sur de España.

<i>AGPI</i>	<i>Colostro (n:30) X\pmSEM</i>	<i>L.Transición (n:28) X\pmSEM</i>	<i>L. Madura (n:23) X\pmSEM</i>
<i>Ac. Linoleico (C18:2n-6)</i>	3617,8 \pm 361,6	4739,6 \pm 937	5413 \pm 427,4#
<i>AA (C20:4n-6)</i>	157,6 \pm 12,3	164,9 \pm 9,5	165,6 \pm 11,5
<i>Ac. Linolénico (C18:3n-3)</i>	81,9 \pm 7,1	146,6 \pm 14,7*	236,5 \pm 26,6#\\$
<i>EPA (C20:5n-3)</i>	41,2 \pm 3,4	26,8 \pm 1,9*	31,6 \pm 3,3
<i>DHA (C22:6n-3)</i>	110,3 \pm 7,5	131,8 \pm 11,3	112,8 \pm 11,2

X: media; SEM: error estándar de la media; *: calostro vs leche transición; #: leche madura vs calostro; \\$: leche madura vs leche transición. *, #, \\$: $p < 0.002$. SEM: error estándar de la media. AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico.

La concentración media del ácido linolénico presenta un aumento a lo largo de la lactancia llegando a ser la diferencia estadísticamente significativa para la leche madura y de transición respecto al calostro. También el ácido linoleico aumenta con el avance de la lactancia siendo su concentración

estadísticamente más alta el la leche madura respecto al calostro, mientras que su derivado de cadena larga permanece estable a lo largo de la lactancia.

Tabla XLIII.- Comparación múltiple de medias, expresados como $\mu\text{g}/100$ ml, de los AGS analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de madres del sur de España.

AG SATURADOS	Colostro (n:30) $X \pm SEM$	L. Transición (n:28) $X \pm SEM$	L. Madura (n:23) $X \pm SEM$
Cáprico (C10:0)	148,7 \pm 16	440,5 \pm 41,4*	497,4 \pm 33#
Láurico (C12:0)	764 \pm 81,3	1977 \pm 198,2*	1820,2 \pm 136,6#
Mirístico (C14:0)	1034,2 \pm 94,2	1927 \pm 182,7*	1751,2 \pm 122,8#
Palmítico (C16:0)	4710,8 \pm 341,1	4813,2 \pm 273,4	6194 \pm 410,9#\\$
Esteárico (C18:0)	1411,3 \pm 103,3	1541 \pm 99,6	2037,5 \pm 182,8#
Araquídico (C20:0)	45,4 \pm 4,1	46,4 \pm 2,9	70,1 \pm 8,4#\\$
Behénico (C22:0)	18,2 \pm 2,8	10,9 \pm 1,8	21,7 \pm 7
Lignocérico (C24:0)	22,8 \pm 17,4	11,4 \pm 2,2*	11,6 \pm 1,9#

X: media; SEM: error estándar de la media; *: calostro vs leche transición; #: leche madura vs calostro; \\$: leche madura vs leche transición. *, #, \\$: $p < 0.002$. SEM: error estándar de la media.

Se puede observar un aumento de la concentración de todos los ácidos grasos saturados (excepto el ácido Behénico) conforme avanza la lactancia, siendo en todos ellos las diferencias estadísticamente significativas para las concentraciones presentes en la leche madura respecto a las del calostro.

Tabla XLIV.- Comparación múltiple de medias, expresados como $\mu\text{g}/100$ ml, de los AGMI analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de madres del sur de España.

AGMI	Colostro (n:30) X\pmSEM	L. Transición (n:28) X\pmSEM	L. Madura (n:23) X\pmSEM
Palmitoleico (C16:1n-9)	131,8 \pm 10,1	106,3 \pm 6,2	130,1 \pm 8,7
Oleico (C18:1n-9)	8284,2 \pm 679,4	8191,7 \pm 539,9\$	11427 \pm 966,7#

X: media; SEM: error estándar de la media; *: calostro vs leche transición; #: leche madura vs calostro; \$: leche madura vs leche transición. *, #, \$: p<0.002. SEM: error estándar de la media.

El ácido oleico presenta un aumento significativo de sus concentraciones conforme avanza la lactancia, mientras el ácido palmitoleico sufre un leve descenso del calostro a la leche de transición para volver a mismos niveles el la leche madura que al inicio de la lactancia.

Tabla XLV.- Comparación múltiple de medias, expresados como $\mu\text{g} /100$ ml, de los AG trans analizadas en calostro, leche de transición y leche madura de madres del sur de España.

AG TRANS	Colostro (n:30) X\pmSEM	L. Transición (n:28) X\pmSEM	L. Madura (n:23) X\pmSEM
C14:1Trans	6,2 \pm 1,1	8,1 \pm 1,4	11,8 \pm 1,9
C18:1Trans	38,4 \pm 14	33,7 \pm 20	13,0 \pm 9,7

X: media; SEM: error estándar de la media; *: calostro vs leche transición; #: leche madura vs calostro; \$: leche madura vs leche transición. *, #, \$: p<0.002. SEM: error estándar de la media.

En la Tabla XLV quedan reflejadas las concentraciones medias de los ácidos grasos trans presentes en leche calostrual, de transición y madura, y se comprueba que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos

momentos de la lactancia en lo que se refiere a estos ácidos grasos.

3. Análisis de correlación

Desde la Tabla XLVI a la LVIII se muestran los resultados del estudio de correlación para variables no paramétricas, que establecen las relaciones de los distintos ácidos grasos entre sí y la relación de la dieta con los ácidos grasos saturados, poliinsaturados, monoinsaturados y trans en los tres momentos de la lactancia.

En el estudio de correlación entre los ácidos grasos entre sí (tabla XLVI, XLVII y XLVIII) se pone de manifiesto una correlación positiva entre el ácido linoleico y el ácido linolénico que se mantiene en leche de calostro ($r: 0,469$; $p=0,005$), en leche de transición ($r: 0,555$; $p=0,001$) y en leche madura ($r: 0,52$; $p=0,002$). Esta relación también aparece reflejada entre los derivados de cadena larga de los ácidos grasos poliinsaturados, siendo significativa la correlación entre el AA y el DHA en la leche calostrada y en la leche de transición ($r: 0,503$; $p=0,002$ y $r: 0,402$; $p=0,022$ respectivamente). Se observa una correlación inversa entre los ácidos grasos saturados de cadena corta (cáprico, láurico y mirístico) y el ácido oleico en los tres periodos de la

lactancia y con el otro AGMI (ácido palmitoleico) en leche calostrual y de transición. Existe una correlación negativa con significación estadística en la leche de transición, entre AGS de cadena corta y los AGPI de cadena larga (AA y DHA). Se ha podido establecer relación positiva entre distintos AGS y el ácido graso trans C:14trans en los tres periodos de la lactancia, en el calostro con el ácido araquídico y el behénico; en la leche de transición con el ácido palmítico y el esteárico y en la leche madura con el palmítico, behénico y lignocérico.

En el estudio de correlación entre la dieta de la madre lactante y la composición en ácidos grasos de la leche materna cabe destacar la correlación positiva presente en la leche calostrual entre el % de AGMI de la dieta y la concentración de ácido oleico en la leche ($r: 0,39$, $p=0,027$) y la correlación negativa entre AGPI de la dieta expresados como gramos y el ácido linolenico en leche calostrual ($r:-0,356$, $p=0,041$) y en leche de transición ($r:-0,356$, $p=0,041$).

Tabla XLVI.- Correlaciones y significaciones estadísticas de los ácidos grasos presentes en leche calostroal

	Cáprico	Láurico	Mirístico	Palmitico	Estearico	Araquidico	Behénico	Lignocérico	Palmitoleico	Oleico	Linoleico	Linoléxico	AA	DHA	EPA	C14:1 trans	C18:1 trans
Cáprico	r																
Láurico	r	0,884															
	P	0,000*															
Mirístico	r	0,502	0,833														
	P	0,006*	0,000*														
Palmitico	r	-0,621	-0,133	0,114													
	P	0,000*	0,468	0,534													
Estearico	r	-0,203	-0,107	-0,028	0,534												
	P	0,205	0,560	0,880	0,002*												
Araquidico	r	-0,17	0,023	0,048	0,269	0,669											
	P	0,927	0,901	0,795	0,137	0,000*											
Behénico	r	-0,018	0,075	0,213	0,357	0,462	0,658										
	P	0,920	0,684	0,243	0,045*	0,008*	0,000*										
Lignocérico	r	-0,118	0,230	0,250	0,267	0,344	0,370	0,370									
	P	0,521	0,205	0,167	0,140	0,054	0,037*	0,037*									
Palmitoleico	r	-0,386	-0,413	-0,422	-0,145	-0,474	-0,307	-0,067									
	P	0,029*	0,019*	0,016*	0,428	0,006*	0,087	0,715									
Oleico	r	-0,722	-0,708	-0,653	-0,020	-0,087	-0,143	-0,032	0,597								
	P	0,000*	0,000*	0,000*	0,915	0,634	0,435	0,861	0,000*								
Linoleico	r	0,309	0,117	-0,149	-0,586	-0,170	-0,231	-0,129	-0,178	-0,420							
	P	0,086	0,523	0,417	0,000*	0,352	0,204	0,482	0,329	0,017*							
Linoléxico	r	0,151	0,026	-0,235	-0,066	0,139	-0,167	0,028	-0,083	-0,159	0,469						
	P	0,408	0,886	0,196	0,719	0,449	0,304	0,878	0,653	0,385	0,005*						
AA	r	-0,344	-0,373	-0,281	0,076	0,085	-0,030	-0,279	-0,035	0,137	-0,161	-0,069					
	P	0,054	0,035*	0,120	0,678	0,645	0,869	0,125	0,122	0,848	0,364	0,700	0,503				
DHA	r	0,057	0,008	0,066	-0,034	0,269	-0,160	-0,018	0,116	-0,349	-0,150	-0,086	0,002*				
	P	0,758	0,965	0,718	0,854	0,136	0,383	0,924	0,527	0,411	0,984	0,630	0,002*	0,272	0,443		
EPA	r	-0,21	-0,035	-0,031	-0,383	0,070	-0,058	0,058	-0,195	-0,204	0,412	0,071	0,272	0,443			
	P	0,099	0,849	0,867	0,031*	0,703	0,688	0,754	0,284	0,262	0,019*	0,699	0,133	0,011*	-0,202	-0,091	
C14:1trans	r	0,054	-0,001	0,121	0,164	0,193	0,405	0,147	-0,257	-0,097	-0,074	-0,180	-0,130	-0,202	-0,091		
	P	0,667	0,995	0,511	0,371	0,291	0,018*	0,421	0,155	0,598	0,689	0,325	-0,479	0,267	0,620		
C18:1trans	r	0,088	0,201	0,236	0,179	0,096	0,141	0,135	0,050	-0,251	-0,115	-0,246	0,040	-0,021	0,127	0,265	
	P	0,633	0,270	0,193	0,328	0,600	0,441	0,462	0,787	0,166	0,651	0,176	0,828	0,911	0,488	0,143	

r= Coeficiente de Correlación de Pearson,* Significación: $p < 0,05$; AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico; EPA ácido eicosapentaenoico

Tabla XLVII.- Correlaciones y significaciones estadísticas de los ácidos grasos presentes en leche de transición

	Capríco	Láurico	Mirístico	Palmitico	Estearíco	Araquídico	Behénico	Lignocérico	Palmitoleico	Oleico	Linoleico	Linolénnico	AA	DHA	EPA	C14:1 trans	C18:1 trans
Capricho	r																
	P																
Láurico	r	0,883															
	P	0,000*															
Mirístico	r	0,502	0,742														
	P	0,006*	0,000*														
Palmitico	r	-0,621	-0,603	-0,104													
	P	0,000*	0,001*	0,598													
Estearíco	r	-0,106	-0,289	-0,264	0,309												
	P	0,459	0,136	0,174	0,110												
Araquídico	r	-0,459	-0,513	-0,294	0,454	0,752											
	P	0,014*	0,005*	0,129	0,015*	0,000*											
Behénico	r	-0,186	-0,248	-0,097	0,230	0,304	0,351										
	P	0,343	0,204	0,622	0,239	0,116	0,067										
Lignocérico	r	-0,329	-0,318	-0,065	0,375	0,497	0,540	0,673									
	P	0,088	0,100	0,641	0,049*	0,007*	0,003*	0,000*									
Palmitoleico	r	-0,696	-0,712	-0,376	0,706	0,113	0,279	0,028	0,233								
	P	0,000*	0,000*	0,049*	0,000*	0,566	0,151	0,887	0,232								
Oleico	r	-0,425	-0,505	-0,501	0,282	0,311	0,222	0,174	0,349	0,518							
	P	0,024*	0,006*	0,007*	0,146	0,107	0,257	0,376	0,068	0,005*							
Linoleico	r	0,718	0,938	0,088	0,009*	-0,596	-0,294	-0,220	-0,545	-0,296							
	P	0,047	-0,012	-0,333	0,001*	0,128	0,303	0,262	0,003*	0,127							
Linolénnico	r	0,811	0,950	0,084	0,086	0,035*	0,066	-0,352	-0,388	-0,114	0,555						
	P	0,000*	0,000*	0,049*	0,000*	0,000*	0,041*	0,000*	0,000*	0,000*	0,007*						
AA	r	-0,382	-0,449	-0,412	0,185	0,031	0,234	0,209	0,486	0,151	0,120	0,009					
	P	0,045*	0,016*	0,029*	0,347	0,876	0,230	0,955	0,009*	0,443	0,512	0,961					
DHA	r	-0,389	-0,608	-0,454	0,402	0,263	0,256	0,129	0,248	0,641	-0,192	-0,031	0,402				
	P	0,036*	0,001*	0,015*	0,034*	0,176	0,188	0,513	0,204	0,004*	0,291	0,867	0,022*				
EPA	r	-0,232	-0,116	0,064	0,272	0,261	0,416	0,476	0,660	0,031	-0,256	-0,536	0,033	0,199			
	P	0,234	0,558	0,746	0,162	0,180	0,028*	0,010*	0,000*	0,876	0,188	0,003	0,869	0,311			
C14:1trans	r	-0,158	-0,368	-0,061	0,586	0,445	0,369	0,270	0,165	0,096	-0,384	-0,094	0,007	0,384	-0,109		
	P	0,422	0,054	0,759	0,001*	0,018*	0,053	0,165	0,403	0,628	0,043*	0,635	0,973	0,043*	0,581		
C18:1trans	r	-0,114	0,019	-0,073	-0,126	0,215	0,018	0,245	-0,011	-0,369	0,362	0,097	0,088	-0,149	0,164		
	P	0,563	0,922	0,711	0,522	0,272	0,928	0,955	0,317	0,053	0,059	0,622	0,655	0,449	0,403	0,201	

r= Coeficiente de Correlación de Pearson,* Significación: p<0,05; AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico; EPA ácido eicosapentaenoico

Tabla XLVIII.- Correlaciones y significaciones estadísticas de los ácidos grasos presentes en leche madura

	Cáprico	Láurico	Mirístico	Palmitico	Estearico	Araquídico	Behénico	Lignocérico	Palmitoleico	Oleico	Linoleico	Linoléxico	AA	DHA	EPA	C14:1trans	C18:1trans
Cáprico	r																
Láurico	r	0,827															
	P	0,000*															
Mirístico	r	0,526	0,687														
	P	0,010*	0,000*														
Palmitico	r	0,667	0,819	0,552													
	P	0,397	0,034	0,006*													
Estearico	r	0,397	0,819	0,552	0,379												
	P	0,397	0,034	0,006*	0,379												
Araquídico	r	0,520	0,357	0,298	0,459	0,028*											
	P	0,011*	0,094	0,167	0,028*												
Behénico	r	0,166	0,956	0,880	0,639	0,536	0,550										
	P	0,923	0,000*	0,000*	0,007*	0,007*	0,007*										
Lignocérico	r	0,120	0,090	0,216	0,347	0,118	0,158	0,127									
	P	0,585	0,683	0,321	0,105	0,593	0,472	0,071									
Palmitoleico	r	0,596	0,685	0,563	0,281	0,152	0,365	0,129	0,111								
	P	0,003*	0,000*	0,005*	0,194	0,487	0,087	0,557	0,055								
Oleico	r	0,002	0,101	0,352	0,633	0,337	0,029	0,158	0,394	0,241							
	P	0,991	0,647	0,100	0,001*	0,116	0,895	0,472	0,063	0,269							
Linoleico	r	0,128	0,072	0,199	0,144	0,244	0,224	0,019	0,010	0,140	0,521						
	P	0,560	0,745	0,362	0,511	0,262	0,304	0,862	0,965	0,523	0,002*						
Linoléxico	r	0,226	0,159	0,144	0,178	0,255	0,385	0,371	0,441	0,164	0,206	0,077					
	P	0,299	0,467	0,512	0,416	0,240	0,070	0,082	0,035*	0,453	0,242	0,663					
AA	r	0,105	0,056	0,091	0,148	0,065	0,096	0,014	0,239	0,277	0,301	0,438	0,209				
	P	0,634	0,800	0,681	0,499	0,769	0,664	0,290	0,273	0,201	0,084	0,010*	0,236				
DHA	r	0,172	0,006	0,087	0,032	0,117	0,203	0,382	0,188	0,105	0,041	0,108	0,075	0,640			
	P	0,434	0,977	0,694	0,883	0,595	0,354	0,072	0,391	0,632	0,853	0,858	0,733	0,001*			
EPA	r	0,050	0,043	0,404	0,439	0,220	0,105	0,439	0,676	0,057	0,193	0,089	0,594	0,121	0,026		
	P	0,820	0,847	0,056	0,036*	0,313	0,633	0,000*	0,989	0,795	0,379	0,687	0,003*	0,581	0,906		
C14:1trans	r	0,040	0,010	0,275	0,396	0,273	0,331	0,051	0,209	0,026	0,127	0,445	0,075	0,064	0,002	0,199	
	P	0,855	0,964	0,204	0,061	0,208	0,123	0,815	0,339	0,905	0,563	0,033*	0,734	0,773	0,993	0,363	

r= Coeficiente de Correlación de Pearson,* Significación: p<0,05; AA: ácido araquidónico, DHA: ácido docosahexaenoico; EPA ácido eicosapentaenoico

Tabla XLIX.- Correlaciones establecidas entre vitamina A y E de la dieta y su presencia en la leche materna

		CALOSTRO		TRANSICION		MADURA	
		Vit. E	Vit. A	Vit. E	Vit. A	Vit.E	Vit. A
Vit.E/Vit.A	r	0,564	-0,378	0,250	-0,494	0,644	-0,635
	p	0,001*	0,028*	0,167	0,004*	0,000*	0,000*
Vit.E (mg)	r	-0,062	0,059	0,028	-0,259	-0,316	0,434
	p	0,726	0,741	0,881	0,153	0,069	0,010*
Vit.A (µg)	r	-0,287	-0,035	0,081	-0,034	-0,203	0,129
	p	0,099	0,843	0,658	0,855	0,250	0,467
Energía (Kcal)	r	-0,116	0,026	0,201	-0,093	-0,104	0,265
	p	0,514	0,883	0,270	0,614	0,560	0,129
grasa (g)	r	-0,141	0,018	0,244	-0,070	0,062	-0,007
	p	0,427	0,922	0,178	0,705	0,728	0,967
AGS (g)	r	-0,026	0,196	0,346	0,032	-0,008	-0,037
	p	0,886	0,267	0,053	0,863	0,962	0,836
AGMI (g)	r	0,009	0,042	0,034	-0,289	0,064	-0,066
	p	0,960	0,812	0,851	0,109	0,721	0,711
AGPI (g)	r	-0,194	0,020	-0,053	-0,262	0,080	-0,001
	p	0,270	0,913	0,775	0,147	0,653	0,996
Colesterol (mg)	r	-0,298	0,067	-0,043	-0,241	-0,239	-0,167
	p	0,087	0,705	0,817	0,184	0,174	0,345
Fibra (g)	r	0,164	0,117	-0,182	-0,262	-0,337	0,314
	p	0,353	0,509	0,318	0,148	0,051	0,071
Hierro (mg)	r	-0,001	0,087	0,042	0,053	-0,154	0,401
	p	0,994	0,623	0,820	0,774	0,385	0,019*
Zinc (mg)	r	0,124	0,173	0,198	0,093	0,024	0,179
	p	0,485	0,328	0,278	0,613	0,892	0,312
Vit. C (mg)	r	0,244	0,130	0,041	-0,160	-0,137	0,197
	p	0,165	0,462	0,825	0,380	0,440	0,263
Vit.E/AGPI	r	0,266	-0,011	-0,073	-0,068	-0,328	0,257
	p	0,129	0,950	0,689	0,713	0,058	0,143
GRASA (%)	r	-0,075	0,157	0,423	0,258	0,211	-0,176
	p	0,674	0,375	0,016*	0,153	0,231	0,319
AGS (%)	r	0,108	0,304	0,304	0,054	0,153	-0,121
	p	0,544	0,080	0,091	0,771	0,388	0,494
AGMI (%)	r	0,032	0,047	-0,135	-0,232	-0,053	-0,313
	p	0,859	0,791	0,460	0,201	0,768	0,072
AGPI (%)	r	-0,286	-0,041	0,237	0,451	0,092	0,164
	p	0,101	0,816	0,191	0,010*	0,605	0,354
Proteínas (g)	r	-0,130	0,057	0,062	0,109	0,169	0,111
	p	0,463	0,750	0,734	0,554	0,341	0,533
H.C (g)	r	-0,110	-0,256	0,105	-0,048	-0,365	0,115
	p	0,537	0,145	0,567	0,795	0,034*	0,516

Vit: vitamina; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono.

CORRELACIONES ESTABLECIDAS ENTRE ÁCIDOS GRASOS DE LA DIETA Y SU PRESENCIA EN LA LECHE MATERNA

Tabla L.- Correlaciones entre la dieta y los AGS presentes en leche calostrual

		CÁPRI CO	LÁURI CO	MIRÍST ICO	PALMÍ TICO	ESTEÁ RICO	ARAQUÍ DICO	BEHÉNIC O	LIGNOCÉ RICO
Vit.E/	r	-0,159	-0,069	-0,035	0,156	0,140	0,150	0,186	0,510
Vit.A	p	0,384	0,708	0,848	0,393	0,445	0,412	0,309	0,003*
Vit, E	r	-0,269	-0,291	-0,257	-0,006	0,121	0,126	0,166	-0,279
(mg)	p	0,137	0,107	0,156	0,974	0,508	0,493	0,363	0,123
Vit, A	r	0,128	0,154	0,197	0,172	-0,146	-0,065	0,126	-0,285
(µg)	p	0,486	0,401	0,279	0,346	0,427	0,725	0,492	0,114
Energía	r	-0,199	-0,172	-0,178	-0,085	0,044	-0,049	0,040	-0,285
(Kcal)	p	0,274	0,346	0,329	0,643	0,812	0,791	0,828	0,114
grasa	r	-0,247	-0,249	-0,207	0,100	0,139	0,050	0,118	-0,217
(g)	p	0,172	0,170	0,255	0,584	0,449	0,785	0,520	0,233
AGS (g)	r	-0,141	-0,137	-0,082	0,231	0,041	0,114	0,097	-0,230
	p	0,441	0,454	0,656	0,203	0,824	0,535	0,599	0,206
AGMI	r	-0,309	-0,332	-0,317	0,076	0,125	0,152	0,141	-0,181
(g)	p	0,085	0,063	0,077	0,680	0,494	0,406	0,442	0,321
AGPI	r	-0,235	-0,209	-0,143	-0,066	-0,003	-0,106	0,004	-0,235
(g)	p	0,196	0,252	0,433	0,718	0,989	0,565	0,983	0,196
Chol	r	-0,008	0,053	0,016	0,006	-0,091	0,033	0,111	-0,059
(mg)	p	0,967	0,773	0,932	0,975	0,621	0,858	0,544	0,749
fibra	r	-0,150	-0,319	-0,477	-0,433	-0,073	0,013	-0,192	-0,105
(g)	p	0,413	0,076	0,006*	0,013*	0,691	0,943	0,292	0,569
hierro	r	-0,162	-0,209	-0,252	-0,031	0,088	-0,059	-0,019	-0,242
(mg)	p	0,374	0,250	0,163	0,868	0,632	0,750	0,919	0,181
Zinc	r	-0,144	-0,230	-0,165	0,179	0,129	0,014	0,013	-0,229
(mg)	p	0,432	0,206	0,367	0,327	0,482	0,941	0,944	0,207
vit, C	r	0,041	-0,090	-0,188	-0,461	-0,199	-0,122	-0,218	0,152
(mg)	p	0,823	0,624	0,303	0,008*	0,275	0,507	0,231	0,405
vit,E/	r	0,105	0,029	-0,097	0,115	0,167	0,156	0,016	0,101
AGPI	p	0,569	0,873	0,598	0,531	0,361	0,395	0,931	0,583
grasa	r	-0,307	-0,336	-0,408	-0,127	-0,135	0,030	-0,115	-0,293
(%)	p	0,087	0,060	0,020*	0,488	0,461	0,872	0,530	0,104
AGS	r	-0,024	-0,097	0,120	0,016	-0,221	0,029	-0,162	-0,166
(%)	p	0,895	0,598	0,513	0,931	0,225	0,876	0,375	0,364
AGMI	r	-0,363	-0,396	-0,440	0,073	0,164	0,245	0,086	-0,109
(%)	p	0,041*	0,025*	0,012*	0,690	0,368	0,177	0,639	0,552
AGPI	r	-0,115	-0,089	-0,026	-0,057	0,103	-0,058	0,077	-0,226
(%)	p	0,532	0,627	0,886	0,757	0,574	0,753	0,676	0,214
proteín	r	-0,075	-0,103	-0,095	-0,101	0,004	-0,056	0,097	-0,334
as (g)	p	0,682	0,576	0,606	0,583	0,982	0,763	0,598	0,061
H.C	r	-0,086	0,061	0,068	0,175	0,382	0,050	0,162	0,205
(g)	p	0,638	0,741	0,711	0,338	0,031*	0,785	0,374	0,261

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono.

Tabla LI.- Correlaciones establecidas entre la dieta y los AGMI y AG trans presentes en la leche calostrala.

		AGMI		AG trans	
		palmitoleico	oleico	C14:1 trans	C18:1 trans
vit.E/ vit.A	r	0,013	0,065	-0,006	-0,053
	p	0,945	0,723	0,975	0,772
vit, E (mg)	r	0,042	0,235	0,000	-0,078
	p	0,818	0,196	1,000	0,673
vit, A (µg)	r	0,092	-0,147	-0,152	-0,124
	p	0,615	0,422	0,405	0,500
Kcal	r	0,063	0,149	-0,228	0,107
	p	0,732	0,417	0,210	0,562
grasa (g)	r	0,083	0,218	-0,117	0,183
	p	0,651	0,231	0,524	0,317
AGS (g)	r	-0,037	0,151	-0,030	0,099
	p	0,842	0,411	0,870	0,590
AGMI (g)	r	0,061	0,278	-0,076	0,099
	p	0,739	0,123	0,680	0,589
AGPI (g)	r	0,103	0,218	-0,119	0,125
	p	0,574	0,231	0,516	0,494
Chol. (mg)	r	0,130	0,065	-0,160	0,038
	p	0,479	0,726	0,383	0,837
fibra (g)	r	-0,006	0,290	0,038	-0,345
	p	0,974	0,108	0,838	0,053
hierro (mg)	r	-0,026	0,216	-0,221	-0,168
	p	0,889	0,235	0,225	0,358
Zinc (mg)	r	-0,116	0,173	-0,094	-0,145
	p	0,527	0,344	0,610	0,430
vit. C (mg)	r	-0,059	0,153	0,179	-0,270
	p	0,750	0,404	0,328	0,135
vit.E/ AGPI	r	-0,034	-0,094	0,115	-0,190
	p	0,853	0,611	0,529	0,298
grasa (%)	r	0,208	0,400	-0,105	0,076
	p	0,253	0,023*	0,569	0,681
AGS (%)	r	0,021	0,179	0,017	-0,137
	p	0,908	0,328	0,924	0,455
AGMI (%)	r	0,118	0,390	0,062	0,028
	p	0,520	0,027*	0,738	0,880
AGPI (%)	r	0,064	0,029	-0,173	0,106
	p	0,729	0,876	0,345	0,564
Proteínas (g)	r	0,063	0,059	-0,153	-0,017
	p	0,732	0,747	0,403	0,928
H.C (g)	r	-0,165	-0,092	-0,222	0,137
	p	0,365	0,616	0,222	0,456

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono

Tabla LII.- Correlaciones establecidas entre la dieta y los AGPI presentes en la leche calostrala.

		Linoleico	Linolénico	AA	DHA	EPA
vit.E/ vit.A	r	-0,108	0,142	0,112	-0,139	-0,063
	p	,0543	0,423	0,527	0,434	0,731
Vit. E (mg)	r	-0,094	-0,252	0,065	0,036	-0,306
	p	0,598	0,151	0,717	0,839	0,088
Vit. A (µg)	r	-0,063	-0,085	-0,195	-0,332	-0,481
	p	0,721	0,633	0,269	0,055	0,005*
Energía (Kcal)	r	-0,124	-0,242	0,178	0,130	-0,192
	p	0,484	0,168	0,315	0,463	0,293
Grasa (g)	r	-0,248	-0,266	0,221	0,114	-0,251
	p	0,158	0,129	0,209	0,521	0,167
AGS (g)	r	-0,266	-0,072	0,160	-0,038	-0,319
	p	0,129	0,687	0,367	0,833	0,075
AGMI (g)	r	-0,203	-0,132	0,255	0,103	-0,122
	p	0,248	0,456	0,146	0,564	0,506
AGPI (g)	r	-0,114	-0,352	-0,006	-0,028	-0,275
	p	0,521	0,041*	0,973	0,874	0,128
Chol, (mg)	r	-0,067	-0,119	-0,018	-0,011	-0,173
	p	0,705	0,501	0,918	0,953	0,344
Fibra (g)	r	0,301	0,141	0,039	0,113	0,008
	p	0,083	0,426	0,825	0,526	0,964
Hierro (mg)	r	-0,126	-0,118	0,150	0,150	-0,288
	p	0,479	0,506	0,399	0,397	0,110
Zinc (mg)	r	-0,204	-0,074	0,169	0,095	-0,293
	p	0,247	0,677	0,340	0,594	0,104
Vit. C (mg)	r	0,237	0,138	-0,106	0,066	0,165
	p	0,178	0,435	0,550	0,712	0,368
Vit. E/AGPI	r	0,170	0,369	-0,025	-0,040	0,009
	p	0,336	0,032*	0,886	0,822	0,960
Grasa (%)	r	-0,121	-0,058	0,214	-0,051	-0,126
	p	0,494	0,745	0,225	0,773	0,490
AGS (%)	r	-0,044	0,239	0,094	-0,162	-0,097
	p	0,803	0,173	0,596	0,359	0,597
AGMI (%)	r	-0,188	0,037	0,255	0,050	-0,004
	p	0,286	0,837	0,146	0,780	0,982
AGPI (%)	r	-0,061	-0,327	-0,001	0,036	-0,072
	p	0,734	0,059	0,994	0,840	0,695
Proteínas (g)	r	-0,106	-0,290	0,115	0,138	-0,193
	p	0,552	0,097	0,519	0,436	0,290
H.C (g)	r	-0,149	-0,045	0,134	0,307	-0,042
	p	0,399	0,799	0,450	0,077	0,821

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono; AA: ácido araquidónico; DHA: ácido docosahexaenoico; EPA: ácido eicosapentaenoico

Tabla LIII.- Correlaciones entre la dieta y los AGS presentes en leche transición.

		CÁPRI CO	LÁURI CO	MIRÍST ICO	PALM ÍTICO	ESTEÁ RICO	ARAQU ÍDICO	BEHÉ NICO	LIGNOC ÉRICO
Vit.E/Vit.A	r	-0,025	-0,072	-0,197	-0,105	0,078	-0,076	-0,103	0,006
	p	0,899	0,714	0,315	0,594	0,694	0,701	0,603	0,978
Vit.E (mg)	r	0,032	-0,077	-0,306	-0,360	-0,129	-0,278	-0,164	-0,199
	p	0,871	0,696	0,113	0,060	0,513	0,153	0,403	,0311
Vit.A (µg)	r	0,240	0,098	-0,071	-0,271	-0,108	-0,328	-0,272	-0,282
	p	0,218	0,619	0,720	0,164	0,586	0,089	0,161	0,145
Kcal	r	0,119	0,021	-0,118	-0,202	-0,055	-0,090	-0,010	-0,113
	p	0,546	0,914	0,549	0,303	0,782	0,649	0,959	0,568
Grasa (g)	r	0,128	0,034	-0,062	-0,154	-0,032	-0,059	0,035	-0,050
	p	0,517	0,862	0,754	0,434	0,871	0,766	0,859	0,799
AGS (g)	r	-0,013	-0,117	0,033	0,017	0,041	0,088	0,000	0,066
	p	0,947	0,553	0,869	0,931	0,836	0,655	1,000	0,738
AGMI (g)	r	0,033	-0,018	-0,120	-0,105	-0,055	0,054	-0,002	-0,085
	p	0,866	0,928	0,543	0,596	0,782	0,784	0,991	0,666
AGPI (g)	r	0,155	0,052	-0,023	-0,063	0,018	0,082	-0,251	-0,335
	p	0,430	0,794	0,909	0,750	0,928	0,680	0,197	0,082
Chol. (mg)	r	0,066	-0,044	-0,160	-0,160	-0,113	-0,071	-0,527	-0,529
	p	0,738	0,824	0,416	0,416	0,567	0,721	0,004*	0,004*
Fibra (g)	r	0,253	0,102	-0,108	-0,272	0,010	-0,275	-0,069	-0,226
	p	0,194	0,604	0,583	0,162	0,962	0,157	0,729	0,247
Hierro (mg)	r	0,308	0,177	0,123	-0,208	-0,085	-0,282	0,067	-0,076
	p	0,111	0,367	0,532	0,289	0,667	0,146	0,733	0,700
Zinc (mg)	r	0,220	0,149	0,131	-0,128	-0,225	-0,205	0,083	-0,016
	p	0,260	0,448	0,505	0,515	0,249	0,296	0,674	0,938
Vit.C (mg)	r	0,144	-0,027	-0,118	-0,256	0,015	-0,221	-0,171	-0,211
	p	0,465	0,890	0,549	0,188	0,938	0,258	0,383	0,282
Vit.E/ AGPI	r	0,015	0,101	-0,096	-0,311	-0,243	-0,393	-0,119	-0,081
	p	0,938	0,609	0,628	0,107	0,212	0,039*	0,545	0,682
Grasa (%)	r	-0,209	-0,234	0,053	0,275	-0,010	0,293	0,166	0,215
	p	0,286	0,231	0,789	0,157	0,959	0,130	0,399	0,272
AGS (%)	r	-0,268	-0,298	-0,050	0,239	0,080	0,371	-0,034	0,076
	p	0,168	0,124	0,801	0,222	0,687	0,052	0,862	0,702
AGMI (%)	r	-0,065	-0,105	-0,101	0,090	-0,154	0,049	-0,059	-0,081
	p	0,743	0,596	0,609	0,647	0,434	0,804	0,766	0,683
AGPI (%)	r	-0,035	-0,012	0,247	0,162	-0,011	-0,115	0,093	0,081
	p	0,859	0,950	0,204	0,409	0,954	0,558	0,636	0,681
proteína (g)	r	0,271	0,308	0,390	-0,014	-0,027	-0,199	-0,043	-0,169
	p	0,164	0,111	0,040*	0,945	0,892	0,311	0,826	0,390
H.C (g)	r	0,057	-0,072	-0,093	-0,202	0,052	0,004	0,260	0,099
	p	0,775	0,716	0,639	0,302	0,794	0,982	0,182	0,616

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono

Tabla LIV.- Correlaciones establecidas entre la dieta y los AGMI y AG trans presentes en la leche transición.

		AGMI		AG TRANS	
		Palmitoleico	Oleico	C14:1 trans	C18:1 trans
Vit.E/Vit.A	r	0,052	0,087	-0,032	0,074
	p	0,793	0,660	0,870	0,710
Vit.E (mg)	r	-0,073	-0,023	-0,268	0,070
	p	0,712	0,909	0,168	0,724
Vit.A (µg)	r	0,108	0,001	-0,140	0,023
	p	0,585	0,998	0,476	0,906
Kcal	r	0,028	-0,075	0,043	-0,023
	p	0,887	0,705	0,828	0,906
Grasa (g)	r	0,039	-0,076	0,097	-0,023
	p	0,844	0,702	0,624	0,906
AGS (g)	r	0,103	-0,045	0,294	0,023
	p	0,601	0,819	0,129	0,906
AGMI (g)	r	0,004	-0,268	-0,004	0,070
	p	0,982	0,168	0,985	0,724
AGPI (g)	r	0,087	-0,424	0,186	-0,023
	p	0,661	0,025*	0,344	0,906
Chol (mg)	r	0,145	-0,357	-0,067	0,023
	p	0,460	0,062	0,736	0,906
fibra (g)	r	-0,164	-0,219	-0,005	-0,070
	p	0,403	0,263	0,982	0,724
Hierro (mg)	r	-0,071	-0,183	0,018	0,070
	p	0,719	0,351	0,926	0,724
Zinc (mg)	r	0,095	-0,094	-0,039	0,023
	p	0,630	0,634	0,845	0,906
Vit.C (mg)	r	-0,084	-0,202	0,051	0,070
	p	0,672	0,302	0,798	0,724
Vit.E/AGPI	r	-0,114	0,263	-0,565	0,023
	p	0,563	0,176	0,002*	0,906
Grasa (%)	r	0,273	0,020	0,325	0,163
	p	0,159	0,921	0,092	0,408
AGS (%)	r	0,208	-0,087	0,337	0,116
	p	0,288	0,658	0,080	0,556
AGMI (%)	r	0,137	-0,230	0,027	-0,023
	p	0,487	0,239	0,893	0,906
AGPI (%)	r	0,063	0,187	0,224	0,023
	p	0,749	0,341	0,251	0,906
Proteínas (g)	r	-0,113	-0,271	0,195	-0,116
	p	0,567	0,164	0,320	0,556
Hidratos (g)	r	-0,204	-0,102	0,120	0,070
	p	0,299	0,604	0,545	0,724

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono.

Tabla LV.- Correlaciones establecidas entre la dieta y los AGPI presentes en la leche de transición.

		Linoleico	Linolénico	AA	DHA	EPA
vit.E/ vit.A	r	-0,108	0,142	0,112	-0,139	-0,063
	p	0,543	0,423	0,527	0,434	0,731
Vit. E (mg)	r	-0,094	-0,252	0,065	0,036	-0,306
	p	0,598	0,151	0,717	0,839	0,088
Vit. A (µg)	r	-0,063	-0,085	-0,195	-0,332	-0,481
	p	0,721	0,633	0,269	0,055	0,005
Energía (Kcal)	r	-0,124	-0,242	0,178	0,130	-0,192
	p	0,484	0,168	0,315	0,463	0,293
Grasa (g)	r	-0,248	-0,266	0,221	0,114	-0,251
	p	0,158	0,129	0,209	0,521	0,167
AGS (g)	r	-0,266	-0,072	0,160	-0,038	-0,319
	p	0,129	0,687	0,367	0,833	0,075
AGMI (g)	r	-0,203	-0,132	0,255	0,103	-0,122
	p	0,248	0,456	0,146	0,564	0,506
AGPI (g)	r	-0,114	-0,352	-0,006	-0,028	-0,275
	p	0,521	0,041	0,973	0,874	0,128
Chol. (mg)	r	-0,067	-0,119	-0,018	-0,011	-0,173
	p	0,705	0,501	0,918	0,953	0,344
Fibra (g)	r	0,301	0,141	0,039	0,113	0,008
	p	0,083	0,426	0,825	0,526	0,964
Hierro (mg)	r	-0,126	-0,118	0,150	0,150	-0,288
	p	0,479	0,506	0,399	0,397	0,110
Zinc (mg)	r	-0,204	-0,074	0,169	0,095	-0,293
	p	0,247	0,677	0,340	0,594	0,104
Vit. C (mg)	r	0,237	0,138	-0,106	0,066	0,165
	p	0,178	0,435	0,550	0,712	0,368
Vit. E/AGPI	r	0,170	0,369	-0,025	-0,040	0,009
	p	0,336	0,032	0,886	0,822	0,960
Grasa (%)	r	-0,121	-0,058	0,214	-0,051	-0,126
	p	0,494	0,745	0,225	0,773	0,490
AGS (%)	r	-0,044	0,239	0,094	-0,162	-0,097
	p	0,803	0,173	0,596	0,359	0,597
AGMI (%)	r	-0,188	0,037	0,255	0,050	-0,004
	p	0,286	0,837	0,146	0,780	0,982
AGPI (%)	r	-0,061	-0,327	-0,001	0,036	-0,072
	p	0,734	0,059	0,994	0,840	0,695
Proteínas (g)	r	-0,106	-0,290	0,115	0,138	-0,193
	p	0,552	0,097	0,519	0,436	0,290
H.C (g)	r	-0,149	-0,045	0,134	0,307	-0,042
	p	0,399	0,799	0,450	0,077	0,821

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono; AA: ácido araquidónico; DHA: ácido docosahexaenoico; EPA: ácido eicosapentaenoico

Tabla LVI.- Correlaciones entre la dieta y los AGS presentes en leche madura.

		CÁPRI CO	LÁURI CO	MIRÍST ICO	PALM ÍTICO	ESTEÁ RICO	ARAQU ÍDICO	BEHÉ NICO	LIGNOC ÉRICO
Vit.E/Vit.A	r	-0,181	-0,160	-0,382	-0,234	0,145	0,277	-0,156	-0,444
	p	0,408	0,467	0,072	0,282	0,510	0,201	0,477	0,034*
Vit.E (mg)	r	-0,074	-0,157	0,120	0,264	0,166	-0,052	-0,076	0,143
	p	0,739	0,474	0,587	0,223	0,449	0,814	0,730	0,514
Vit.A (µg)	r	0,012	0,222	0,346	0,191	0,132	-0,125	0,020	0,074
	p	0,958	0,309	0,106	0,384	0,547	0,571	0,927	0,736
Kcal	r	-0,212	-0,112	0,076	0,086	-0,077	-0,456	-0,200	-0,184
	p	0,333	0,612	0,732	0,696	0,726	0,029	0,359	0,401
Grasa (g)	r	-0,036	-0,210	-0,114	0,132	0,000	-0,391	-0,229	-0,236
	p	0,870	0,335	0,605	0,547	1,000	0,065	0,293	0,279
AGS (g)	r	-0,105	-0,006	0,053	0,043	-0,059	-0,370	-0,065	-0,127
	p	0,633	0,979	0,809	0,846	0,788	0,082	0,767	0,563
AGMI (g)	r	0,152	0,013	0,193	0,267	0,152	-0,346	-0,472	-0,303
	p	0,488	0,954	0,378	0,218	0,488	0,106	0,023*	0,159
AGPI (g)	r	-0,029	-0,237	-0,163	0,096	-0,023	-0,360	-0,211	-0,218
	p	0,895	0,276	0,458	0,662	0,916	0,092	0,335	0,317
Chol. (mg)	r	0,393	0,581	0,311	-0,177	0,030	0,050	-0,045	0,000
	p	0,064	0,004*	0,148	0,420	0,893	0,820	0,838	1,000
Fibra (g)	r	-0,396	-0,172	0,164	0,243	0,082	0,146	0,274	0,293
	p	0,062	,433	0,455	0,264	0,710	0,505	0,206	0,175
Hierro (mg)	r	-0,316	-0,187	0,085	0,256	0,103	-0,290	-0,030	-0,017
	p	0,142	0,393	0,700	0,239	0,641	0,180	0,891	0,938
Zinc (mg)	r	-0,101	0,002	-0,042	-0,108	-0,050	-0,161	0,002	0,000
	p	0,646	0,992	0,850	0,624	0,821	0,462	0,994	1,000
Vit.C (mg)	r	0,119	0,393	0,486	0,316	0,388	0,168	0,305	0,385
	p	0,588	0,064	0,019*	0,142	0,068	0,444	0,158	0,069
Vit.E/ AGPI	r	-0,325	-0,092	0,116	0,008	-0,073	0,215	0,355	0,403
	p	0,131	0,676	0,598	0,970	0,740	0,324	0,096	0,056
Grasa (%)	r	0,206	-0,012	-0,091	0,034	0,033	-0,291	-0,185	-0,195
	p	0,346	0,958	0,681	0,879	0,883	0,177	0,398	0,373
AGS (%)	r	0,144	-0,069	-0,045	0,180	0,089	-0,367	-0,307	-0,327
	p	0,512	0,756	0,837	0,411	0,687	0,085	0,154	0,128
AGMI (%)	r	0,216	0,000	-0,195	-0,329	-0,242	0,049	-0,269	-0,212
	p	0,323	1,000	0,372	0,126	0,266	0,824	0,214	0,332
AGPI (%)	r	-0,090	-0,252	-0,124	0,241	0,193	-0,040	0,157	0,167
	p	0,685	0,246	0,572	0,269	0,378	0,855	0,474	0,447
proteína (g)	r	-0,095	-0,237	-0,108	0,210	0,156	-0,137	0,111	0,132
	p	0,667	0,276	0,624	0,335	0,478	0,533	0,613	0,547
H.C (g)	r	0,029	0,188	0,213	-0,050	-0,044	-0,129	-0,222	-0,115
	p	0,895	0,390	0,330	0,821	0,841	0,558	0,309	0,601

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono

Tabla LVII.- Correlaciones establecidas entre la dieta y los AGMI y AG trans presentes en la leche madura.

		AGMI		AG TRANS	
		Palmitoleico	Oleico	C14:1 trans	C18:1 trans
Vit.E/Vit.A	r	-0,201	0,172	0,500	0,146
	p	0,357	0,432	0,015	0,508
Vit.E (mg)	r	0,403	0,109	0,295	-0,448
	p	0,056	0,621	0,172	0,032*
Vit.A (µg)	r	0,193	-0,135	-0,080	-0,573
	p	0,378	0,540	0,717	0,004*
Kcal	r	0,253	-0,081	-0,149	-0,573
	p	0,243	0,712	0,498	0,004*
grasa (g)	r	0,259	0,135	0,025	-0,573
	p	0,232	0,540	0,910	0,004*
AGS (g)	r	0,072	-0,043	-0,077	-0,573
	p	0,743	0,846	0,725	0,004*
AGMI (g)	r	0,315	-0,091	-0,156	-0,518
	p	0,143	0,681	0,477	0,011*
AGPI (g)	r	0,254	0,177	0,056	-0,518
	p	0,242	0,420	0,800	0,011*
Chol (mg)	r	-0,232	-0,407	-0,169	0,021
	p	0,286	0,054	0,440	0,923
fibra (g)	r	0,187	0,126	0,043	-0,105
	p	0,393	0,568	0,846	0,635
Hierro (mg)	r	0,282	-0,077	0,043	-0,489
	p	0,193	0,728	0,846	0,018
Zinc (mg)	r	0,048	-0,216	0,063	-0,059
	p	0,829	0,322	0,775	0,788
Vit.C (mg)	r	-0,108	-0,198	0,243	-0,518
	p	0,625	0,366	0,264	0,011*
Vit.E/AGPI	r	-0,047	0,145	0,201	0,007
	p	0,832	0,510	0,357	0,975
Grasa (%)	r	-0,143	0,078	0,131	-0,463
	p	0,516	0,724	0,551	0,026*
AGS (%)	r	0,042	0,060	-0,018	-0,520
	p	0,849	0,784	0,935	0,011*
AGMI (%)	r	-0,106	0,023	-0,185	0,549
	p	0,630	0,916	0,399	0,007*
AGPI (%)	r	0,153	0,255	0,441	-0,466
	p	0,487	0,241	0,035*	0,025*
Proteínas (g)	r	0,164	0,215	0,416	-0,573
	p	0,456	0,325	0,048*	0,004*
Hidratos (g)	r	0,335	-0,304	-0,303	-0,036
	p	0,118	0,158	0,160	0,872

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono

Tabla LVIII.- Correlaciones establecidas entre la dieta y los AGPI presentes en la leche madura.

		Linoleico	Linolénico	AA	DHA	EPA
vit.E/ vit.A	r	0,206	0,086	0,047	-0,085	0,004
	p	0,244	0,627	0,793	0,631	0,984
Vit. E (mg)	r	-0,167	-0,136	-0,042	0,137	-0,066
	p	0,346	0,442	0,815	0,440	0,766
Vit. A (µg)	r	-0,128	-0,432	0,094	0,078	0,257
	p	0,470	0,011*	0,596	0,662	0,236
Energía (Kcal)	r	-0,003	-0,307	0,251	0,074	0,168
	p	0,988	0,077	0,153	0,679	0,444
Grasa (g)	r	0,016	-0,105	0,154	-0,075	-0,016
	p	0,929	0,553	0,386	0,673	0,943
AGS (g)	r	0,019	-0,296	0,202	-0,024	0,084
	p	0,913	0,089	0,253	0,891	0,704
AGMI (g)	r	-0,081	-0,164	0,023	0,057	0,137
	p	0,650	0,355	0,897	0,751	0,534
AGPI (g)	r	0,038	-0,053	0,151	-0,080	-0,032
	p	0,831	0,766	0,392	0,654	0,884
Chol. (mg)	r	0,139	-0,222	0,019	0,059	-0,091
	p	0,434	0,208	0,916	0,738	0,678
Fibra (g)	r	-0,282	-0,220	-0,044	0,120	0,404
	p	0,106	0,212	0,805	0,498	0,056
Hierro (mg)	r	-0,089	-0,208	0,169	-0,014	-0,038
	p	0,615	0,239	0,340	0,939	0,863
Zinc (mg)	r	0,207	0,041	0,219	-0,030	-0,348
	p	0,240	0,816	0,214	0,867	0,104
Vit. C (mg)	r	-0,209	-0,432	-0,171	0,062	-0,057
	p	0,236	0,011*	0,333	0,726	0,795
Vit. E/AGPI	r	-0,083	-0,043	-0,080	0,204	0,227
	p	0,641	0,807	0,651	0,247	0,299
Grasa (%)	r	0,081	-0,006	-0,082	-0,109	-0,224
	p	0,650	0,972	0,645	0,541	0,304
AGS (%)	r	-0,108	-0,232	-0,041	-0,128	-0,097
	p	0,542	0,187	0,818	0,472	0,659
AGMI (%)	r	0,105	0,220	-0,073	0,086	0,042
	p	0,555	0,210	0,684	0,628	0,850
AGPI (%)	r	-0,084	0,032	-0,072	-0,115	-0,271
	p	0,636	0,859	0,684	0,516	0,210
Proteínas (g)	r	-0,058	-0,098	0,017	-0,062	-0,265
	p	0,744	0,583	0,922	0,728	0,222
H.C (g)	r	-0,049	-0,300	0,219	0,149	0,162
	p	0,783	0,085	0,214	0,399	0,459

Vit: vitamina; Kcal: kilocalorías; Chol: colesterol; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono; AA: ácido araquidónico; DHA: ácido docosahexaenoico; EPA: ácido eicosapentaenoico.

DISCUSSION



DISCUSION



La dieta de la madre durante la gestación y durante la lactancia tiene un importante papel sobre la composición de la leche humana, así, existen numerosos trabajos que ponen de manifiesto la relación de la dieta materna con la composición de la leche mediante estudios de intervención nutricional tras la suplementación a la madre del alimento en estudio (Scopesi, 2001; Helland, 2001, 2003; Innis, 2004; Décsi, 2005); pero al mismo tiempo, otros resultados son contradictorios; por ejemplo, Canfield et al. (Canfield, 1997) refirieron aumento en la concentración de β -carotenos en la leche humana tras la suplementación con una única dosis de β -caroteno, mientras que Gossage et al. (Gossage, 2002) no encuentran cambios en las

concentraciones de este nutriente u otros carotenoides tras dicha suplementación.

Se ha demostrado que la suplementación con DHA en la dieta materna determina un incremento de las concentraciones de este ácido graso en la leche humana (Jensen, 2000; Fidler, 2000); aún así las estimaciones del porcentaje de DHA que es secretado en la leche procedente de la dieta, se cifra entorno al 20% (Makrides, 1996; Fidler, 2000). Otros estudios con isótopos marcados han puesto de manifiesto que la tasa de transferencia de estos ácidos grasos directamente de la dieta materna a la leche humana, cuando la ingesta dietética es pobre en grasa, no es tan importante, sino que son las reservas maternas las principales responsables del mayor o menor aporte a la leche de la mujer lactante y, por ende, a su recién nacido (Carnielli, 1996; Demmelmair, 1995; Salen, 1996; Sauerwald, 1996; Uauy, 2000). Del Prado, demuestra que una importante proporción del ácido araquidónico y de su precursor el ácido linoleico de la dieta, no alcanzan la glándula mamaria directamente tras la absorción intestinal, sino que son temporalmente almacenados y posteriormente liberados a la circulación, siendo el turnover de las reservas maternas la principal fuente de AA y ácido linoleico en la leche humana (Del Prado, 2001). Este hecho explicaría el

que mujeres que siguen dietas vegetarianas, con escasa ingesta de AGPI-CL, muestren un contenido en la leche de estos ácidos grasos similar al de madres con una dieta omnívora (Sanders, 1992). La movilización de estos ácidos grasos desde las reservas corporales (fundamentalmente del tejido adiposo) puede garantizar el aporte de AGPI-CL, que son importantes para el desarrollo del niño (Koletzko, 1999b; 2001).

Parece, por tanto, que aún siendo la dieta materna durante la lactancia un elemento fundamental para la composición de la leche que va a recibir su lactante, no es el único factor que interviene, sino que también la composición de la leche humana depende de las reservas maternas de los determinados nutrientes, de la síntesis endógena de algunos de ellos y de factores ambientales y genéticos (Larqué, 2006; Agostoni, 2005).

COMPOSICIÓN DE ACIDOS GRASOS EN LA LECHE HUMANA DE MADRES ANDALUZAS DESDE EL CALOSTRO A LA LECHE MADURA

La composición ideal en ácidos grasos de las fórmulas infantiles para recién nacidos a término basadas en la composición grasa de la leche humana, especialmente en ácidos

grasos esenciales, aún no ha sido completamente fijada, debido a la gran variabilidad en la composición de la leche humana según los datos obtenidos en diferentes poblaciones de todo el mundo (Agostoni, 2003; Koletzko, 2008). En general, la leche humana procedente de mujeres de países en desarrollo muestra mayores niveles de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, lo que refleja una dieta rica en carbohidratos. Las altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente los de la serie n-3 reflejan una dieta materna de mayor calidad que se observa con mayor frecuencia en países más desarrollados (Koletzko, 1992, 2008; Marosvölgyi, 2006).

En el presente trabajo se ha realizado la determinación en los 3 periodos de la lactancia (calostro, transición y madura) de AG saturados (C10:0; C12:0; C14:0; C16:0; C18:0; C20:0; C22:0; y C24:0), monoinsaturados (C16:1 n-9; C18:1 n-9), poliinsaturados (C18:2 n-6; 18:3 n-3; C20:4 n-6; C20:5 n-3 y C22:6 n-3) y los AG trans (C14:1 trans y C18:1 trans). La composición en ácidos grasos presentes en las muestras de leche recogidas en nuestro estudio en los tres periodos de la lactancia, es comparable a la referida en otros estudios tanto a nivel nacional como internacional, lo que se pondrá de manifiesto más

adelante (Domínguez, 1996; Barbas, 1998 Francois, 1998; Scopesi, 2001).

Con respecto a los *ácidos grasos saturados*, el porcentaje total de de los mismos fue de 36,7% en la leche calostrual, 42% en la leche de transición y un 39,3% en la leche madura, datos que son coincidentes con estudios realizados en nuestro país, como los publicados por Domínguez–Ortega et al. (Domínguez–Ortega, 1997) que refieren valores de 38,54% en leche de calostro y de 40,45% en leche de transición. Comparados estos datos con los referidos en otros estudios europeos (Koletzko, 1992b), así como en países subdesarrollados (Boersma, 1991; Koletzko, 1992b; Kravasec, 2002), la proporción de AG saturados en nuestro estudio es menor, siendo las diferencias más llamativas con respecto a los países en vías de desarrollo. Este bajo % de AG saturados parece reflejar los hábitos alimentarios de los países mediterráneos, que, dado el consumo mayoritario de aceites vegetales, las proporciones de ácidos grasos saturados se mantienen más bajas en la leche humana.

Los datos que se discuten en el presente estudio muestran al mismo tiempo un incremento significativo del % AG saturados conforme avanza la lactancia ($p < 0,000$), que se produce a

expensas de un incremento porcentual estadísticamente significativo de los ácidos grasos saturados de cadena media, Cáprico, Láurico y Mirístico, desde la leche calostrál a la leche madura (Figura 10) y, que reflejaría un aumento de la síntesis de novo en la glándula mamaria, tal y como ha sido publicado por otros autores (Barbas, 1998). En la literatura está descrito el aumento porcentual de los ácidos grasos saturados de cadena media a lo largo de la lactancia, tanto en países mediterráneos, como es el caso de Italia (Scopesi, 2001) o de España (Domínguez, 1996), como en los subdesarrollados (Boersma, 1991), aunque en estos últimos, la concentración de ácidos grasos saturados es mayor que en los industrializados, lo que se explica por una dieta rica en hidratos de carbono y pobre en grasa.

En el presente estudio la distribución porcentual de los distintos ácidos grasos saturados estudiados en la leche humana son comparables a las descritas en países de nuestro entorno (Domínguez, 1996, Scopesi, 2001), y claramente diferentes a las descritas en países en vías de desarrollo (Krasevec; 2002).

El ácido palmítico es, dentro de los ácidos grasos saturados, el que aparece en mayor proporción. Alrededor del

75% de éste ácido graso en la leche humana aparece en posición *sn*-2 (López-López, 2001, 2002). Este hecho se cree que es una de las razones de la mejor absorción de los triacilglicéridos de la leche materna frente a los preparados para lactantes (Decker, 1996; Morera, 2000; Hunter, 2001). En nuestro estudio se observa una disminución en la distribución porcentual estadísticamente significativa para el ácido palmítico desde la leche calostrual a la madura (Figura 9). Esta disminución relativa también la podemos encontrar en la literatura (Boersma, 1991; Barbas, 1998; Morera, 2000; Scopesi, 2001), hecho que quedaría justificado por la disminución de la fracción grasa en la leche madura respecto a la leche calostrual.

Las concentraciones de los ácidos grasos saturados en $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ obtenidas en leche humana de las madres andaluzas del presente estudio, demuestran igualmente un incremento significativo de todos los ácidos grasos analizados a lo largo de la lactancia (Cáprico, Láurico, Mirístico, Palmítico, Esteárico, Araquídico), excepto en el caso del Acido Behénico que no se modifica y el Lignocérico que disminuye. La distribución porcentual de los ácidos Capricho, Láurico y Mirístico también resultó significativa a lo largo de la lactancia, así como la del ácido Lignocérico (Figuras 9 y 10).

Los *ácidos grasos monoinsaturados* aparecen en un 37% en leche calostrual, en un 33% en la leche de transición y en un 40% en la leche madura. Dentro de los monoinsaturados, el más importante es el ácido oleico, que además es el ácido graso más abundante en la leche materna a lo largo de los tres periodos de la lactancia. Se observa que el porcentaje de distribución del ácido oleico del total de ácidos grasos en las muestras de leche de las madres del presente estudio (calostro: 36.44 ± 0.66 ; transición: 32.65 ± 0.89 y madura: 35.77 ± 1.03) (Figura 11) es muy superior al % descrito en países subdesarrollados (Boersma, 1991), acorde con la idea de que en estos países hay un menor consumo de ácidos grasos provenientes de grasas animales, aceites de oliva y colza (Koletzko, 1992b), y más parecida a estudios realizados en nuestro país (Barbas, 1998), aunque ligeramente inferior a estudios realizados en Italia (Scopesi, 2001), dato que se explicaría por el mayor consumo de aceite de oliva (rico en ácido oleico) en Italia cifrado en 32,1 g/persona/día frente al consumo en España estimado en 29,6 g/persona/día (Serra-Majem, 1997). En nuestro estudio se observa una disminución del % de ácido oleico, respecto al total de ácidos grasos, conforme avanza la lactancia (Figura 11), llegando a ser las diferencias estadísticamente significativas para el caso de la

leche de transición con respecto a la de calostro. Comparado con otros estudios, no hay uniformidad en los datos encontrados. Así otros estudios ponen de manifiesto igualmente esta disminución conforme avanza la lactancia (Boersma, 1991), frente a estudios donde no hay variaciones significativas a lo largo de la misma (Domínguez-Ortega, 1997; Scopesi, 2001), e incluso estudios donde se demuestra un aumento de la proporción de ácido oleico desde la leche calostrual a la madura (Barbas, 1998). Sin embargo, nuestros resultados coinciden con estos datos en cuanto a las concentraciones en $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ de ácido oleico que aumentan significativamente en la leche madura respecto a la leche de transición y a la leche calostrual {calostro: $8284,2\pm 679,4$; transición: $8191,7\pm 539,9$; madura: $11427,0\pm 966,7$, $p=0.002$ }.

En lo que se refiere a los *ácidos grasos poliinsaturados*, el porcentaje total en la leche de calostro es de 18%, en la leche de transición de 17,1% y en la leche madura de 18,3%, no habiendo diferencias significativas para el conjunto de los AGPI a lo largo de la lactancia. El más abundante con diferencia es el ácido linoleico {leche madura: $16,59\pm 3,35\%$ } como queda reflejado en las tablas XIV, XXIII y XXXII hecho coincidente con otros estudios (Domínguez, 1997; Scopesi, 2001); no obstante, el porcentaje es muy superior al descrito por la mayoría de los estudios

realizados en mujeres europeas (Rudy, 1991; Scopesi, 1997), incluso superior a trabajos realizados con madres españolas, aunque en estos casos las diferencias no son tan marcadas (18:2n-6: 14,7%, De Lucchi, 1988; Barbas, 1998; 18:2n-6: 11,35%, Domínguez, 1997). La alta proporción en ácido linoleico en la leche humana de mujeres españolas, podría explicarse por el alto consumo de ácidos grasos poliinsaturados presentes en los aceites vegetales junto con un alto consumo de pescado respecto a otros países europeos (Michaelsen, 1994).

La dietas actuales de países industrializados de Norteamérica, con frecuencia contienen altas cantidades relativas de ácido linoleico, sobretodo donde existe un alto consumo de aceites de girasol, maíz o azafrán (Simopoulos, 1999). Las estimaciones actuales sugieren que el ácido linoleico representa el 7% de la ingesta dietética, y el α -linolenico alrededor del 0.5% en los EEUU; la ingesta media de EPA más DHA es alrededor de 100 mg/persona/día según Kris-Etherton et al. (Kris-Etherton, 2000). Un análisis reciente de la ingesta dietética junto con el análisis de las cantidades de ácidos grasos n-6 y n-3 en los suplementos dietéticos encuentran cantidades de 160 mg/día de DHA y 120 de AA entre las mujeres del oeste de Canadá (Innis & Elias, 2003). Alrededor del 80% de los suplementos dietéticos del

DHA proceden del pescado y mariscos, un 10% de los huevos y el resto de la carnes y aves (Innis & Elias, 2003).

Se puede ver cómo a lo largo de la lactancia se incrementa de forma significativa el ácido linolénico en la leche de transición y madura con respecto al calostro; mientras que el ácido linoleico se mantiene sin variaciones significativas durante estos 3 periodos (Figura 7). Esto conlleva un descenso del cociente AL/ALA con el avance de la lactancia, a expensas del aumento del ácido linolénico.

En 1991 se establecieron como valores deseables del cociente AL/ALA para las fórmulas infantiles el rango comprendido entre 5/1 y 15/1, basándose en estudios que demostraron que disminuyendo este índice se producía un aumento de la cantidad de DHA disponible en la membrana de los eritrocitos (Clark, 1992), y las consecuencias que este hecho implica por los efectos beneficiosos ya comentados del DHA. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que la disminución de ese cociente de 10/1 a 5/1, aún aumentando los niveles plasmáticos de DHA no provoca efectos sobre la función visual o el crecimiento (Makrides, 2000). Las recomendaciones recientes de ácidos grasos respaldan la adición de DHA en las fórmulas

infantiles. La adición de al menos un 0.2% de ácidos grasos como el DHA parece necesaria para conseguir beneficios en los objetivos funcionales, pero los niveles de DHA no deberían superar el 0.5% de los ácidos grasos porque no se ha publicado ninguna evaluación sistemática de unos niveles más altos de ingesta. De acuerdo con los conocimientos actuales, el contenido en las fórmulas infantiles de AA debería ser al menos igual al DHA añadido, y el EPA no debería superar el nivel de DHA (Koletzko, 2008).

En nuestro estudio a pesar del descenso que se produce conforme avanza la lactancia, las madres españolas presentan un índice AL/ALA muy por encima de 15:1 (coincidente con las estimaciones para los países industrializados que están entre 15–20:1, cuando deberían ser inferiores a 10:1), y del rango 5/1 y 15/1 establecido para las fórmulas infantiles como hemos referido. Esto sugiere un cambio en los hábitos alimentarios con un consumo creciente de grasas con mayor contenido en ácido linoleico y menor en ácido linolénico, hecho ya observado y puesto de manifiesto en otros países europeos (Michaelsen, 1994; Xiang, 2005).

Con respecto a los AGPI de cadena larga los que aparecen en mayor cuantía en nuestro estudio son el AA en primer lugar (oscilando entre 0,23%–0,75%) seguido por el DHA (oscila 0,15%–0,56%), presentando estos datos un rango superior en DHA al de otros estudios realizados en Europa según la revisión publicada por Koletzko et al., donde la proporción de DHA en la leche madura varia entre 0,2–0,4% (Koletzko, 1992b).

Al mismo tiempo se observa un descenso de los niveles de AA y DHA conforme avanza la lactancia ya descrito en diversos estudios (Domínguez, 1997, Agostoni, 2001, Scopesi 2001; López-López, 2002). Esto se podría explicar porque conforme avanza la edad del recién nacido se produce una maduración de los sistemas enzimáticos de las Δ -desaturasas, por lo que progresivamente el recién nacido es capaz de sintetizar DHA y AA a partir de los ácidos grasos poliinsaturados precursores. Este hecho lo prevé la naturaleza incrementando de forma progresiva el aporte de linoleico y linolénico (índices AL/ALA) y disminuyendo el aporte de AA y DHA.

Se ha demostrado que un consumo mayoritario de AG de la serie ω -3 produce un efecto antiinflamatorio y antialérgico al competir con los AG ω -6 en la formación de los eicosanoides

(Calder, 2006); la preservación del cociente AL/ALA a favor de los ω -3 en la leche humana conforme avanza la lactancia, también podría estar relacionado con este efecto, que a su vez podría explicar algunos de los efectos beneficiosos sobre el sistema inmune descritos en relación con la lactancia materna. Se ha demostrado que la lactancia materna protege del desarrollo de la enfermedad atópica (Oddy, 1999); sin embargo, se puede desarrollar enfermedad atópica incluso con lactancia materna exclusiva (Isolauri, 1999). Este hecho se ha relacionado con una alteración en el consumo de AGPI por parte de la madre. En este sentido Kankaanpää et al., observan que la leche de las madres con enfermedad atópica, presenta menor contenido en ácido linolénico que la leche de madres sanas, así como que los niños con enfermedad atópica presentan en suero mayor contenido de AG de serie n-6 y menos de la serie n-3. De modo, que una dieta materna con elevada proporción AGPI n-6 o reducida de n-3 podría actuar como factor de riesgo para el desarrollo de atopia (Kankaanpää, 2001).

Hawkes, et al. en 2002 (Hawkes, 2002) publicaron un estudio en el que demostraron que el consumo materno de ≤ 600 mg/día de DHA y < 140 mg EPA/día durante 4 semanas (equivalente al consumo de 1 o más raciones de pescado al día),

aunque produce un incremento de la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en células muy relevantes del organismo, no produce alteraciones importantes de citoquinas en el plasma ni en la leche humana. Así pues, las madres lactantes pueden seguir estas recomendaciones que serán beneficiosas para su propia salud y sin riesgos para el bebé.

Los ácidos grasos poliinsaturados obtenidos en $\mu\text{g}/100$ mL mostraron un incremento de los ácidos linoleico y linolénico (precursores de los poliinsaturados de cadena larga) en la leche madura respecto al calostro. El AA y el DHA mantienen sus niveles estables en los tres tipos de leche analizados. Estos datos coinciden con los expresados en porcentajes y discutidos en párrafos anteriores.

Los *ácidos grasos trans* son ácidos grasos insaturados que presentan al menos un doble enlace en posición trans, dando lugar a una molécula más rígida, lo que los hace parecidos a los AG saturados. El contenido en ácidos grasos trans de la leche humana varia reflejando la ingesta diaria de estos ácidos grasos. Esto produce marcadas diferencias según los distintos hábitos alimentarios, variando de 7,2% en Canadá (Chen, 1995) a un 1.9% en Francia (Chardigny, 1995). Sin embargo, en España los datos

son muy inferiores, habiendo sido descritos porcentajes en leche madura de un 0,95% (Boatella, 1993), hecho explicado por la dieta mediterránea. En nuestro estudio se ha determinado el ácido graso C18:1 trans, que constituye el principal ácido graso trans de la dieta, y el ácido C14:1 trans. Su cuantificación está en consonancia con estudios realizados en España, presentando el C18:1 trans un descenso no significativo desde el calostro hasta la leche madura (0,06% del total de los ácidos grasos, $13,0 \pm 9,7 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$). Los resultados respecto al C14:1 trans fueron similares manteniéndose estable su eliminación a través de la leche desde el calostro hasta la leche madura.

Han sido descritos en diversos estudios la influencia de los *ácidos grasos trans* sobre los AGPI y sus derivados de cadena larga. Ratnayake et al. e Innis et al., han descrito una correlación negativa entre el contenido en la leche humana de ácidos grasos trans y los ácidos grasos linoleico y linolénico en mujeres canadienses (Ratnayake, 1996; Innis, 1999; 2004); nuestros resultados coinciden con los publicados por estos autores, al haberse demostrado una correlación negativa entre el % de 18:2n-6 presente en la leche de transición y el % de C14:1 trans (n:28, $r=-0,43$, $p=0,022$). Sin embargo, en leche madura se ha podido constatar en nuestra población una correlación positiva

altamente significativa entre el % de 18:3n-3 y el C18:1trans (n: 23, r:0,87, p=0,0000).

Otros estudios en animales muestran un incremento de ácido linoleico en leche tras alimentación con una dieta rica en ácidos grasos trans (Pettersen, 1991; Larqué, 2000). También, la posible influencia de los ácidos grasos trans sobre los AGPI-CL es motivo de controversia, así hay estudios que describen correlación inversa entre contenido en ácidos grasos trans en la leche y el contenido en AA (Desci, 1995; Koletzko, 1992c) siendo explicado este hecho por una inhibición de la desaturación del ácido linoleico a su derivado de cadena larga (AA). Estos datos se han corroborado en el presente estudio al haberse demostrado correlaciones inversas estadísticamente significativas entre el contenido de C:18-1 trans en la leche humana y el contenido en AA y DHA {n:81, r:-0,28, p=0.010; r:-0,30, p=0.007, respectivamente}.

Sin embargo, otros estudios no encuentran este efecto sobre los AGPI-CL (Innis, 1999; Larqué, 2000). En el presente estudio se han podido establecer correlaciones positivas entre el C:14-trans y los ácidos grasos linoleico, linolénico, AA y DHA {n:81, r:0,36, p=0,001; r:0,41, p=0,000; r:0,39, p=0,000; r:0,41,

$p=0,000$, respectivamente}. Estos resultados indican que un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados se acompaña simultáneamente de altas concentraciones de C:14-trans. El potencial efecto perjudicial de este ácido graso sobre el organismo en desarrollo del lactante es aún desconocido y requiere más estudios.

COMPOSICIÓN EN VITAMINAS LIPOSOLUBLES (E y A) EN LA LECHE DE MADRES ANDALUZAS.

Vitamina E

Los tocoferoles (cuya forma más activa y abundante es el estereoisómero α -tocoferol, responsable del 90% de la actividad en tejidos animales) son los principales antioxidantes liposolubles del organismo (Benzie, 1996). La vitamina E protege de la oxidación principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados situados en las membranas biológicas, donde también se encuentra esta vitamina (Giasuddin, 1981, Urano, 1990).

La vitamina E es una vitamina liposoluble extremadamente importante durante etapas precoces de la vida, desde el tiempo de la concepción hasta el desarrollo postnatal del niño. Los

mecanismos que están implicados en la captación por parte de la placenta y de la glándula mamaria están relacionados con la presencia de receptores lipoproteicos (receptor-LDL, receptor-VLDL, receptor neutralizante de clase B tipo I) junto a la lipoproteína lipasa presente en las barreras placentaria y mamaria. Además, la proteína transportadora de α -tocoferol juega un papel esencial en la transferencia selectiva de *RRR*- α -tocoferol a través de la placenta (Debier, 2007).

Se han encontrado bajas concentraciones de α -tocoferol en cordón umbilical respecto a las circulantes en el plasma materno. La ingesta de la leche calostrual, muy rica en vitamina E, es por tanto de máxima importancia para el recién nacido, pues este antioxidante le confiere al neonato una capacidad defensiva esencial frente a la toxicidad por oxígeno. Los recién nacidos prematuros están normalmente sometidos a un alto estrés oxidativo que está relacionado entre otros con la deficiencia de α -tocoferol, pues esta vitamina se acumula fundamentalmente durante el 3er trimestre de la gestación. A pesar de la suplementación con vitamina E, los prematuros requieren tratamientos prolongados para rellenar los depósitos de este antioxidante frente a las necesidades del recién nacido a término (Debier, 2007).

El mayor consumo de AGPI, que se correlaciona con mayor contenido de AGPI en la leche humana, puede conllevar una excesiva peroxidación, de ahí la importancia de la vitamina E. Los valores de vitamina E obtenidos en el presente estudio en los distintos periodos de la lactancia, presentan rangos parecidos a los referidos anteriormente por otros estudios (Boersma, 1991; Barbas, 1998). Igualmente, se ha comprobado una disminución significativa en las concentraciones de vitamina E conforme avanza la lactancia. Así en leche calostrál el contenido en vitamina E es de 1.34 ± 0.15 mg/dl, mientras que en la leche madura el contenido disminuye de forma significativa hasta 0.38 ± 0.19 mg/dl ($p=0.002$) (Jansson, 1981; Olafsdottir, 2001; Sala-Vila, 2005). Estos datos coinciden con los hallados en el presente estudio, donde la concentración en leche calostrál de vitamina E es de 8.91 ± 16.11 mg/dl, y desciende significativamente hasta la leche de transición (4.31 ± 1.94 mg/dl), manteniéndose en estas concentraciones en leche madura (5.72 ± 8.94 mg/dl), aunque en mayores concentraciones respecto a los estudios citados anteriormente.

En relación a estos hallazgos se ha demostrado que la liberación de α -tocoferol está promovida por la acción de una

lipoprotein-lipasa sobre las lipoproteínas ricas en triglicéridos (Cohn, 1992) y que un incremento de la actividad de la lipoprotein lipasa en la glándula mamaria ocurre en el periodo perinatal. De esta forma se asegura una mayor proporción de vitamina E en la leche de calostro, necesaria para el recién nacido, durante las primeras semanas de vida, cuando sus reservas en ésta vitamina son bajas. En este mismo sentido la razón α - tocoferol/Linoleico es mayor en leche calostrual que en la leche madura, lo que pone de evidencia la eficiencia de la glándula mamaria para asegurar una mayor aporte de vitamina E en las primeras semanas al recién nacido (Janson, 1981).

Hoppu et al. (Hoppu, 2005) en un reciente estudio publicado en el European Journal of Clinical Nutrition realizado en leche madura de 27 madres finlandesas, muestran concentraciones de α -tocoferol (0.43 mg/100 mL ó 0.12 mg/g de grasa total) y de β -carotenos (4.3 μ g/100 mL ó 1.2 μ g/g de grasa total); la evolución de estas cifras a lo largo de la lactancia mostró un patrón similar al obtenido en el presente estudio.

Vitamina A

La vitamina A es un micronutriente esencial para el neonato por sus funciones en el sistema inmune, la visión y la

diferenciación celular (Barbara, 1994). Para los recién nacidos alimentados exclusivamente al pecho, la leche es la única fuente de vitamina A. Al igual que ocurre con la vitamina E, se observa un descenso significativo en la concentración de la vitamina A desde la leche calostrada a la leche madura, hecho también descrito por Gossage, et al. (Gossage, 2002).

El calostro tiene una concentración total de caroteno de 218 $\mu\text{g}/\text{dl}$, en el que aproximadamente el 30% es β -caroteno. En el calostro la concentración de carotenoides llega a ser hasta 5 veces mayor que la concentración en la leche madura.

La deficiencia de vitamina A puede ocurrir durante la lactancia, por lo que se recomienda la monitorización del estado nutricional de vitamina A en las madres lactantes y en sus hijos. Un estudio realizado por Panpanich et al. (Panpanich, 2002) en 262 mujeres lactantes del área rural de Chiang Mai, Tailandia, han demostrado que las concentraciones medias de retinol en las tribus que habitan las colinas es significativamente más baja que las que viven en la ciudad (Thais) (0.19 ± 0.06 y 0.08 ± 0.05 vs 0.21 ± 0.05 y 0.10 ± 0.06 mg/dl , respectivamente). En el presente estudio, la concentración de retinol en leche humana resultó de 0.23 ± 0.11 mg/dl en leche calostrada, 0.15 ± 0.085 mg/dl en leche

de transición y 0.10 ± 0.04 mg/dl en leche madura, datos totalmente coincidentes con el estudio de Panpanich et al. La media del retinol en suero y en leche materna es más alta durante los primeros 3 meses de la lactancia. Según, Panpanich et al. la edad materna, la paridad, el estado antropométrico materno (BMI) no se asociaron con las concentraciones de retino en suero o en leche materna. Estos autores demostraron una correlación entre las concentraciones séricas y las de la leche materna en mujeres que alimentan a sus hijos al pecho durante 6 o más meses (coeficiente de regresión: 0.30, 95%, CI: 0.16–0.43). Los niveles de retinol en leche materna descienden significativamente desde los 4 a los 12 meses después del parto, lo que incrementa el riesgo de deficiencia de vitamina A en niños que son exclusivamente alimentados al pecho o que reciben escasa alimentación complementaria durante este periodo. Si la alimentación complementaria se inicia al 6 mes de vida y el niño recibe cantidades adecuadas de vitamina A, esto aseguraría el adecuado estado nutricional de esta vitamina en el lactante durante el primer año de vida (Panpanich, 2002).

En el caso de los recién nacidos prematuros de muy bajo peso muestran una deficiencia de vitamina A con un descenso

significativo desde una semana después del nacimiento hasta el momento del alta médica (0.3 vs 0.7 μM) (Henriksen, 2006).

INFLUENCIA DE LA DIETA MATERNA SOBRE LA COMPOSICION DE LA LECHE HUMANA EN ACIDOS GRASOS Y VITAMINAS A Y E.

Ácidos grasos

Ya se ha comentado que el origen de los AGPI-CL en la leche humana puede provenir de la dieta materna, de las reservas maternas y por la síntesis de novo a partir de los precursores de 18 átomos de carbono. Son muchos los estudios que han demostrado la importancia de la dieta en la concentración de los AGPI-CL que aparece en la leche de la que se alimentará el recién nacido, mediante la suplementación con alimentos ricos en estos ácidos grasos (Jensen, 2000). La utilización de los isótopos estables ha permitido un mejor conocimiento de los mecanismos y la cuantía de la transferencia de los AGPI de la dieta a la leche humana. Fidler et al. (Filder, 2000) estiman que el porcentaje de DHA presente en la leche que se puede explicar por la transferencia directa desde la dieta materna es de aproximadamente de un 20%. Del Prado et al, en un estudio realizado también mediante isótopos estables, en mujeres con una dieta baja en grasa, refieren que al menos un 90% del AA en

la leche humana no deriva directamente de la absorción intestinal, y que no más de un 1,2% del AA en la leche puede explicarse por conversión endógena del ácido linoleico de la dieta (Del Prado, 2001). De modo que aunque la dieta claramente afecta la composición de la leche humana, estos estudios con isótopos demuestran que sólo una pequeña proporción de los ácidos grasos de la dieta son directamente transferidos a la leche, siendo las reservas maternas las principales que contribuyen en la composición de los ácidos grasos de la leche (Ali, 1986; Demmelmair, 2001).

La leche humana proporciona al bebé ácido linoleico, ácido linolénico, DHA y AA y otros ácidos grasos de cadena larga. El nivel de AA es relativamente constante a nivel mundial, mientras que el nivel de DHA es más variable, y depende de la dieta y del estilo de vida maternos (Agostoni, 1998, 2003; Marangoni, 2002; Smit, 2002; Yuhas, 2006). La media poblacional de AA en la leche materna oscilan entre el 0.35% y el 0.7% del total de ácidos grasos (Marangoni, 2002; Smit, 2002; Yuhas, 2006), mientras que la media poblacional de DHA oscila entre el 0.17% y el 1.0% del total de ácidos grasos (Yuhas, 2006). Las mujeres que dan el pecho y reciben suplementos de DHA registran un aumento de los niveles de DHA en la leche (Filder, 2000; Jensen, 2005). Gibson et al. (Gibson, 1997) informaron de que existe una

relación dosis dependiente entre el consumo materno de DHA y los niveles de este ácido graso en la leche humana. En este estudio los niveles de DHA en la leche humana por encima del 0.8% del total de ácidos grasos contribuyeron poco a aumentar el nivel de DHA en plasma o en glóbulos rojos de los lactantes estudiados.

Recientemente, se han publicado dos documentos de consenso en el que se recomienda la ingesta media de al menos 200 mg/día de DHA en embarazadas y madres lactantes. Las mujeres en edad de tener hijos pueden cumplir esta ingesta recomendada de DHA consumiendo una o dos porciones de pescado por semana, incluido el pescado graso, que constituye una buena fuente de AGPI-CL n-3; el consumo de esta cantidad de pescado no suele exceder los límites tolerables de ingesta de contaminantes ambientales (Koletzko, 2007, 2008). Además, se ha comprobado que la ingesta del precursor, ácido linolenico, es mucho menos efectiva con respecto al depósito de DHA en el cerebro fetal respecto a la ingesta directa de DHA.

Vitamina E

Se ha demostrado que las mujeres lactantes suplementadas con aceite de hígado de bacalao muestran niveles

más bajos de α -tocoferol en la leche materna. Por el contrario, Helland et al. (Helland, 1998) no observaron cambios en las concentraciones de vitamina E tras la suplementación con aceite de hígado de bacalao. Una cuestión muy discutida es si el incremento de ácidos grasos poliinsaturados en la leche materna serían los responsables del descenso del α -tocoferol o no. La determinación de malonil-dialdehído (MDA), como medida de la lipo-peroxidación, resultó más elevada en la leche humana de las mujeres que recibieron los suplementos de aceite de hígado de bacalao (0.50 vs 0.34 nmol/ml), aunque no de forma significativa. Por tanto, estos resultados sugieren la necesidad de más estudios. En el presente estudio se ha podido establecer una correlación positiva entre la ingesta de grasa total (%) y las concentraciones de Vitamina E ($r:0.423$, $p=0.016$) en la leche de transición, así como entre el % de ingesta de ácidos grasos poliinsaturados y las concentraciones de Vitamina A en la leche de transición de las muestras estudiadas ($r: 0.45$, $p=0.010$).

Un estudio reciente demuestra la necesidad de suplementar con vitaminas a las madres lactantes durante los primeros meses de vida para mantener cantidades adecuadas en la leche materna (vitamina A, 130 μg ; vitamina B1, 100 μg ;

vitamina B2, 130 µg; vitamina E, 750 µg; vitamina B6, 60 µg) (Kodentsova, 2006).

COMPARACION DE LA INGESTA DIETETICA Y LAS RECOMENDACIONES DIARIAS ADMISIBLES

Los resultados del análisis de dichas encuestas reflejan que la ingesta media diaria de *energía* por las mujeres corresponde a 2229.5 ± 374.13 Kcal, encontrándose en muchos de los casos (93 %) por debajo de lo recomendado (2733 Kcal/día) (Tabla XLI).

Respecto a la *ingesta media diaria de macronutrientes* (hidratos de carbono, lípidos y proteínas), queda demostrado que, en esta población estudiada, la dieta de la mayoría de las madres excede la cantidad de glúcidos (77%) y proteínas (94%), según la RDA 2002. En la tabla LVIX se compara la composición dietética de las madres del presente estudio con las de otros estudios en madres lactantes.

Tabla LVIX.- Comparación de composición de la dieta de diferentes estudios

	Canadá ¹	Alemania ²	USA ³	Italia ⁴	Presente estudio
Energía (Kcal/d)	2611.3±82	2078.3	2406.6±50	2365±64	2229±37
H.C (g/d)	-	235.5	324±114	280.1±89	241.2±61
Proteínas (g/d)	-	76.9	95±25	90.4±28	109.7±26
Grasa (g/d)	79.8±3.6	95.4	87±27	97.1±30	84.2±18
AGS (g/d)	28±1.3	44.1	-	41±15	38.7±
AGMI (g/d)	29.2±1.5	33.7	-	44.4±14	32.7±8
AGPI (g/d)	13.4±0.6	9.4	-	8.6±4	12.7±3
Vit. E (mg/d)	-	-	7±3.8	-	7.6±2.8
Vit. A (µg/d)	-	-	2378±1008	-	994±346

¹ (Innis, 2003); ² (Fidler, 2000); ³ (Gossage, 2002); ⁴ (Scopesi, 2001); Vit: vitamina; AGS: ácidos grasos saturados; AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; H.C: hidratos de carbono.

Los lípidos aportados en la dieta no alcanzan, en más de la mitad de los casos (59 %) las cifras recomendadas, así como tampoco cubren el porcentaje recomendado respecto al total de energía (35% del total calórico diario) (40). Dentro de la cantidad total de grasa, el 30% deber ser aportado en forma de AGPI, lo cual debe ser tenido en cuenta debido a las importantes funciones ya descritas a lo largo de este trabajo. La comparación establecida entre lo ideal y lo ingerido por las madres muestra un déficit de aporte dietético para estos AGPI en el 40,6% de ellas. Estos porcentajes quizás sean aceptables en esta población, ya que hay que situarla en unos hábitos de consumo muy específicos, los del sur peninsular, donde el consumo mayoritario es aceite de oliva, rico en ácidos grasos monoinsaturados.

Es notable también que el colesterol procedente de la ingesta sobrepasa lo recomendado en la mayoría de los casos. Sólo el 14,1% de los casos ingieren menos de 300 mg/día de colesterol, frente al 67.8% cuyos ingresos superan los 350 mg/día. El resto (el 18,1%) ingiere lo recomendado (300 a 350 mg/día). El rango de valores para el colesterol es muy amplio (169,33 y 1152.48 mg/día).

En cuanto a la *ingesta diaria media para los micronutrientes* (Tabla XLI), se debe resaltar la gravedad de la falta de ingesta suficiente de hierro, ya que ninguna de las encuestadas alcanzó el nivel recomendado. El aporte exógeno de hierro en los alimentos debe guardar un paralelismo con la ingesta total de energía (según la RDA, 27 mg de hierro para un total de 2700 Kcal; ó lo que es igual, 10 mg por cada 1000 Kcal). En las mujeres de nuestro estudio, tampoco se cumple esta relación, pudiendo observarse que por cada 1000 Kcal de la dieta sólo se consumían una media de 6 mg de hierro al día. Así pues, esta población se encuentra con un riesgo elevado de padecer anemia ferropénica o deficiencia de hierro, por lo que debería modificar sus hábitos alimentarios o bien valorar la posibilidad de la suplementación farmacológica con hierro. Lo mismo ocurre

cuando se cuantifica la ingesta diaria de cinc, ya que en el 85,9% de los casos son deficitarias las encuestas dietéticas recogidas. No hay que olvidar que este mineral que participa de forma decisiva en la capacidad de cicatrización de heridas o en la percepción de los sabores. Los síntomas derivados de su déficit nutricional no suelen ser acusados en personas sanas, aunque en cuadros de malabsorción intestinal o en pacientes con insuficiencia renal o hepática puede aparecer como primer síntoma una dermatitis.

Las concentraciones de las vitaminas A y E en leche materna están relacionadas con la dieta (Olafsdottir, 2001, Canfield, 2001). Casi ninguna mujer ingiere la cantidad recomendada de vitamina E (99%), lo cual indica un déficit considerable en los sistemas de antioxidación no enzimática natural. La media de ingesta diaria fue de 7.6 ± 2.8 mg, cifra muy por debajo de las recomendaciones del 2002 sobre ingesta diaria adecuada de esta vitamina (19 mg/día). Esto junto al descenso de la concentración en la leche materna conforme avanza la lactancia, hacen candidato al bebé de presentar una deficiencia de esta vitamina por falta de unos aportes adecuados, especialmente en lactancias exclusivas prolongadas. Por otro lado, las necesidades diarias de vitaminas A y C sí son cubiertas

por el 79,7% de las mujeres, con lo que podría contrarrestar el déficit nutricional de la vitamina E en cuanto a capacidad o potencial antioxidante dependiente de la dieta (Tabla XLI). Sin embargo, debe resaltarse que el mecanismo antioxidante de las vitaminas A y E es muy diferente: el grupo fenol existente en la molécula de vitamina E evita que los fenómenos de oxidación que sufre este compuesto se perpetúen y afecten a otras sustancias. La vitamina A, por el contrario, evita la peroxidación lipídica al oxidarse ella misma, pero se convierte en una sustancia inestable que puede dar lugar a más fenómenos oxidativos en cadena.

CONCLUSIONES



CONCLUSIONES



1ª.- La composición en ácidos grasos presentes en las muestras de leche del presente estudio en los tres periodos de la lactancia, es comparable a la referida en otros estudios tanto a nivel nacional como internacional.

2ª.- La distribución porcentual actual de los distintos *ácidos grasos saturados* estudiados en la leche humana de madres andaluzas son comparables a las descritas en países de nuestro entorno, y claramente diferentes a las descritas en países en vías de desarrollo. Las concentraciones de los ácidos grasos saturados en $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$, demuestran un incremento significativo a lo largo de la lactancia de todos los ácidos grasos analizados.

3^a.– Se observa una disminución estadísticamente significativa en la distribución porcentual del *ácido palmítico* desde la leche calostrada a la madura, hecho que quedaría justificado por la disminución de la fracción grasa en la leche madura respecto a la leche calostrada.

4^a.– El porcentaje de distribución del *ácido oleico* del total de ácidos grasos en las muestras de leche de las madres del presente estudio es muy superior al descrito en países subdesarrollados, acorde con la idea de que en estos países hay un menor consumo de ácidos grasos provenientes de grasas animales, aceites de oliva y colza.

5^a.– El porcentaje total de *ácidos grasos poliinsaturados* en la leche de calostro es de 18%, en la leche de transición de 17,1% y en la leche madura de 18,3%, no habiendo diferencias significativas para el conjunto de los AGPI a lo largo de la lactancia. El más abundante con diferencia es el ácido linoleico; no obstante, el porcentaje es muy superior al descrito por la mayoría de los estudios realizados en mujeres europeas, probablemente debido al alto consumo de aceites vegetales y de pescado ricos en ácidos grasos poliinsaturados, respecto a otros países europeos.

6^a.– Se observa un incremento significativo del *ácido linolénico* en la leche de transición y madura con respecto al calostro; mientras que el ácido linoleico se mantiene sin variaciones significativas durante estos 3 periodos. Esto conlleva un descenso del cociente AL/ALA con el

avance de la lactancia, a expensas del aumento del ácido linolénico. Sin embargo, este aumento del ALA no evita que las madres españolas presenten un índice AL/ALA muy por encima de 15:1, coincidente con las estimaciones para los países industrializados que están entre 15–20:1, cuando deberían ser inferiores a 10:1. Estos resultados sugieren que en nuestro medio se ha producido también un cambio en los hábitos alimentarios, con un consumo creciente de grasas con mayor contenido en ácido linoleico y menor en ácido linolénico, hecho ya observado y puesto de manifiesto en otros países europeos.

7^a.– Respecto a los *ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL)*, el porcentaje de AA del total de ácidos grasos oscila entre 0,23%–0,75% y de DHA entre 0,15%–0,56%, rango de DHA superior al de otros estudios realizados en Europa donde la proporción de DHA en la leche madura varía entre 0,2–0,4%.

8^a.– El descenso de los niveles de *AA y DHA* conforme avanza la lactancia se podría explicar por una maduración de los sistemas enzimáticos de las Δ -desaturasas en el lactante, que a partir del mes es capaz de sintetizar DHA y AA desde sus precursores, capacidad que se va incrementando de forma progresiva.

9^a.– Se demuestra la presencia de *ácidos grasos C18:1 trans y C14:1 trans* en la leche materna y que se eliminan de forma estable desde el calostro a la leche madura. Los resultados obtenidos

indican que un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados se acompaña simultáneamente de altas concentraciones de C:14-trans. El potencial efecto perjudicial de estos ácidos grasos sobre el organismo en desarrollo del lactante es aún desconocido y requiere más estudios.

10^a.– El análisis de la dieta de las madres lactantes andaluzas del presente estudio muestra que en el 93% de los casos, la *ingesta energética* es muy inferior a las recomendaciones y, por el contrario, es hiperglucídica (77%) e hiperproteica (94%) según la RDA 2002. Además, en el 67.8% de las mujeres lactantes la ingesta diaria de colesterol resultó igualmente elevada respecto a las recomendaciones.

11^a.– Se comprueba una deficiencia en la ingesta dietética de *ácidos grasos poliinsaturados* en el 40.6% de las madres lactantes andaluzas estudiadas, lo que se justificaría por un consumo mayoritario de aceite de oliva rico en ácidos grasos monoinsaturados. Estos resultados corroboran la necesidad de realizar una ingesta media de al menos 200 mg/día de DHA durante la gestación y la lactancia e incluso antes de la concepción, tal y como se establece en las recientes Recomendaciones Internacionales (*Grupo de Consenso Europeo– Koletzko B, et al.: J Perinat Med 2008; 36: 5–14*).

12^a.- Por último, las concentraciones en leche calostrual de vitaminas E y A descienden significativamente conforme avanza la lactancia. El 99% de las madres lactantes no ingiere la cantidad recomendada de vitamina E y ninguna alcanzó el nivel de ingesta recomendado de hierro. De igual modo, el 85.9% no alcanzaron las recomendaciones de ingesta diaria de zinc para mujeres lactantes.

BIBLIOGRAFIA



BIBLIOGRAFIA

- ✓ Agostoni C, Trojan S, Bellú R, et al. Neurodevelopmental quotient of healthy term infants at 4 months and feeding practice: the role of the long Chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatr Res.*1995;38:262–266.
- ✓ Agostoni C, Trojan S, Bellú R, et al. Neurodevelopmental quotient and fatty acid status at 24 months and fatty acid composition of diet in early infancy: a follow-up study. *Arch Dis Child.*1997;76:421–424.
- ✓ Agostoni C, Marangoni F, Giovannini M, Riva E, Galli C. Long-chain polyunsaturated fatty acids, infant formula, and breastfeeding. (Letter) *Lancet* 1998; 352:1703–04.
- ✓ Agostoni C, Marangoni F, Grandi F, Lammardo AM, Giovannini M, Riva E, Galli C. Earlier smoking habits are associated with higher serum lipids and lower milk fat and polyunsaturated fatty acid content in the first six months of lactation. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:1466–72 .
- ✓ Agostoni C, Marangoni F, Lammardo AM, Galli C, Giovannini M and Riva E. Long-chain polyunsaturated fatty acid concentration in human hindmilk are constant throughout twelve months of lactation. En:

Newburg (ed.): Bioactive components of human milk. Ed. Kluwer Academic / Plenum Publishers. New York. 2001; pp. 157–161.

✓ Agostoni C. LC–PUFA content in human milk: is it always optimal?. *Acta Paediatr.* 2005 Nov;94(11):1532–4.

✓ Ali J, Kader HA, Hassan K, Arshat H: Change in human milk vitamin E and total lipids during the first 12 days of lactation. *Am J Clin Nutr.* 1986; 43: 925–930.

✓ Andersen KB, Kvam L, Nilsson A, Nrum KR, Blomhoff R: Mobilization of retinol from stellate cells. *J Biol Chem.* 1992; 267: In Press.

✓ Apgar J, Makdani D, Sowel AL et al. Reproducibility of relative dosis response (RDR) test and serum retinol and retinyl ester concentration in children after a 2–week interval. *J Am Coll Nutr* 1996;15:450–457.

✓ Aranda JV, Chemtob S, Laugdignon N and Sasyniuk BI: Furosemide and vitamin E. Two problem drugs in neonatology. *Ped Clin North.* 1986; 33: 583–602.

✓ Arbuckle L., Innis S. Docosaehaenoic acid in developing brain and retina of piglets fed high or low alphalinilenate formula and without fish oil. *Lipids* 1992;27:89–93.

✓ Arita M, Sato Y, Miyata A et al: Human alpha–tocopherol transfer protein: cDNA cloning, expression and chromosomal localization. *Biochem J.* 1995; 306: 437–443.

✓ Armstrong B, Doll R. Bladder cancer mortality in England and Wales in relation to cigarette smoking and saccharin consumption. *Br J Prev Soc Med.* 1974 Nov;28(4):233–40.

✓ Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Litin L, Willett WC: Correlations of vitamin A and E intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among American men and women. *J Nutr* 1992; 122: 1792–1801.

-
- ✓ Auestad N, Montalbo MB, Fitzgerald K, et al. Visual acuity, erythrocyte composition, and growth in term infants fed formulas with and without long chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatr Res.*1997;41:1-10.

 - ✓ Awaya S, Sugawara M, Miyake S. Observation in patients with occlusion amblyopia. *Trans Ophtalmol Soc UK* 1979;99:447-456.

 - ✓ Azaïs-Braesco V, Pascal G. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1325s-1333s.

 - ✓ Bach AC. Carnitine in human nutrition. *Z Ernährungswiss.* 1982 Dec;21(4):257-65. Review.

 - ✓ Ballabriga A: Essential fatty acids and human tissue composition. An Overview. *Acta Paediatr Scand* 1994;(suppl)402:63-8.

 - ✓ Barbara A. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *Am J Clin Nutr* 1994;59(suppl):517s-24s.

 - ✓ Barbas C, Herrera E. Lipid composition and vitamin E content in human colostrum and mature milk. *J Physiol Biochem.* 1998 ;54(3):167-73.

 - ✓ Barua AB, Olson JA: Retinoyl β -glucuronide: an endogenous compound of human blood. *Am J Clin Nutr.* 1986; 43: 481-485.

 - ✓ Barua S, Tarannum S, Nahar L, Mohiduzzaman M. Retinol and alpha-tocopherol content in breast milk of Bangladeshi mothers under low socio-economic status. *Int J Food Sci Nutr.* 1997 ;48(1):13-8.

 - ✓ Basu TK, Donald EA, Hargreaves JA, Thompson GW, Chao E and Peterson RD: Seasonal variation of vitamin A (retinol) in older men and women. *J Am Coll Nutr.* 1994; 13: 641-645.

 - ✓ Bavik CO, Eriksson U, Allen RA, Peterson PA: Identification and partial characterization of a retinal pigment epithelial membrane

receptor for plasma retinol-binding protein. *J Biol Chem.* 1991; 266: 14978-14985.

✓ Behrens WA, Thompson JN y Madere R: Distribution of α -tocopherol in human lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 1982; 35: 691-696.

✓ Beijers RJ, Schaafsma A. Long-chain polyunsaturated fatty acid content in Dutch preterm breast milk; differences in the concentrations of docosahexaenoic acid and arachidonic acid due to length of gestation. *Early Hum Dev.* 1996 22;44(3):215-23.

✓ Bell EF, Brown EJ, Milner R, Sinclair JC y Zipursky A: Absorción de la vitamina E en prematuros de muy bajo peso. *Pediatrics (ed. Esp)* 1979;7:472-474.

✓ Bell EF, Filer LJ Jr: The role of vitamin E in the premature infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 1981; 34:414-422.

✓ Benolken RM, Anderson RE, Wheeler TG. Membrane fatty acids associated with the electrical response in visual excitation. *Science* 1973;182:1253-1260.

✓ Benzie IFF: Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *Internat J Food Sci Nutr.* 1996; 47: 233-261.

✓ Bertschi I, Collomb M, Rist L, et al. Maternal dietary Alpine butter intake affects human milk: fatty acids and conjugated linoleic acid isomers. *Lipids.* 2005;40(6):581-7.

✓ Bianchi G. Genetics as a guide for antihypertensive therapy: future perspective. *Cardiologia.* 1999;44;1:483-8.

✓ Bieri JG: Dietary role of vitamin E, In: Horisberger and Bracco (Eds): *Lipids in modern nutrition.* Netslé Nutrition New York.Raven Press. 1987: 123-131.

-
- ✓ Birch DG, Birch EE, Hoffman DR, et al. Breast feeding and optimal visual development. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1993;30:33–38.

 - ✓ Birch DG, Birch EE, Hoffman DR, et al. Dietary essential fatty acid supply and visual acuity development. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:3242–3253.

 - ✓ Bjorneboe A, Bjorneboe GA, Bodd E, Hagen BF, Kveseth N y Drevon CA: Transport and distribution of alpha-tocopherol in lymph, serum and liver cells in rat. *Biophys Biochim Acta*. 1986; 889: 310–315.

 - ✓ Bjorneboe A, Soyland E, Bjorneboe GA, Pajka G, Drevon CA: Effect of dietary supplementation with eicosapentaenoic acid in the treatment of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1987; 117(4): 463–469.

 - ✓ Blaner WS and Olson JA: Retinol and retinoic acid metabolism. In: *The Retinoids. Biology, Chemistry and Medicine*. Ed: Sporn MB, Roberts AB and Goodman DS. 1994; Raven Press, New York: 229–255.

 - ✓ Blaner WS, Van Bennekkum AM, Brouwer A, Hendriks HFJ: Distribution of lecithin-retinol acyltransferase activity in different types of rat liver cells and subcellular fractions. *FEBS Lett*. 1990; 274: 89–92.

 - ✓ Blaner WS: Retinol-binding protein: the serum transport protein for vitamin A. *Endocr Rev*. 1989; 10: 308–316.

 - ✓ Blomhoff R, Eskild W, Kindberg GM, Prydz K, Berg T: Intracellular transport of endocytosed chylomicron (³H)retinyl ester in rat liver parenchymal cells. Evidence for translocation of a (³H)retinoid from endosomes to endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 1985; 260: 13566–13570.

 - ✓ Blomhoff R, Green MH y Norum KR: Vitamin A: physiological and biochemical processing. *Ann Rev Nutr*. 1992; 12: 37–57.

 - ✓ Blomhoff R, Green MH, Green JB, Berg T, Norum KR: Vitamin A metabolism: New perspectives on absorption, transport and storage. *Physiol Rev*. 1991; 71: 951–990.

- ✓ Blomhoff R, Helgerud P, Rasmussen M, Berg T, Norum KR: In vivo uptake of chylomicron (³H)retinyl ester by rat liver: evidence for retinol transfer from parenchymal to nonparenchymal cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1982; 79: 7326–7330.

- ✓ Blomhoff R, Holte K, Naess L, Berg T: Newly administered (³H)retinol is transferred from hepatocytes to stellate cells in liver for storage. Exp Cell Res. 1984; 150: 186–193.

- ✓ Blomhoff R: Overview of vitamin A metabolism and function. In : Vitamin A in Health and Disease (Blomhoff r. ed). 1994a; Marcel Dekker Inc, New York. pp: 1–35.

- ✓ Blomhoff R: Transport and metabolism of vitamin A . Nutr Rev. 1994b; 52: 13–23.

- ✓ Bloomgarden Z: Antioxidant and diabetes. Diabetes Care. 1997; 20 (4): 670–673.

- ✓ Boatella J, Rafecas M, Codny R, Gibert A, Rivero M, Tormo R, et al. Trans fatty acid content of human milk in Spain. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1993,16.432–4

- ✓ Boersma WG, Lowenberg A, Holloway Y, Kuttschrutter H, Snijder JA, Koeter GH Pneumococcal capsular antigen detection and pneumococcal serology in patients with community acquired pneumonia.Thorax. 1991.46(12):902–6.

- ✓ Bohm V, Peiker G, Starker A, et al. Vitamin B1, B2, A and E and beta-carotene content in transitional breast milk and comparative studies in maternal and umbilical cord blood Z Ernährungswiss. 1997 Sep;36(3):214–9.

- ✓ Bourre JM, Dumont O, Piciotti M, et al. Control of brain fatty acids. Upsala J Med Sci. 1990;48:109–131.

-
- ✓ Bratter P, Bratter VE, Recknagel S, Brunetto R. Maternal selenium status influences the concentration and binding pattern of zinc in human milk. *J Trace Elem Med Biol.* 1997;11(4):203–9.
 - ✓ Brody T: Vitamins. En: *Nutritional Biochemistry.* Academic Press Inc: San Diego. 1994.
 - ✓ Buck J, Derguini F, Levi E, Nakanishi K, Hammerling U. Intracellular signaling by 14-hydroxy-4,14-retro-retinol. *Science.* 1991; 254(5038):1654–6.
 - ✓ Burton GW and Ingold KU: Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann N Y Acad Sci.* 1989; 570: 7–22.
 - ✓ Burton GW, Cheeseman KH, Doba T and Ingold KJ: Vitamin E as an antioxidant in vivo and vitro. En: *Biology of vitamin E.* Ciba Foundation Symposium 101. Pitman Press. London. 1983; 4–18.
 - ✓ Burton GW, Ingold KU, Zahalka H, Dutton PM, Hughes L, FOSTER DO and Beherens WA: Biodiscrimination of tocopherols. En: M Mino, H Nakamura, AT Diplock, HJ Kayden, eds. *Vitam. E–Its Usefulness in Health and in Curing Diseases,* Jpn. Sci. Soc. Press Press and Karger: Tokyo, Japan and Basel, Switzeland. 1993; 58–61.
 - ✓ Burton GW, Webb A and Ingold KU: A mild, rapid and efficient method of lipid extraction for use in determining vitamin E/lipid ratios. *Lipids.* 1985; 20(1): 29–39.
 - ✓ Cadwell, DF, Churchill JA. Learning impairment in rats administered a lipid free diet during pregnancy. *Psychological Reports.* 1966;19:99–102.
 - ✓ Calder PC. n–3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clin Sci (Lond).* 2004;107(1):1–11.
 - ✓ Calder PC, Krauss–Etschmann S, de Jong EC, Dupont C, Frick JS, Frokiaer H, Heinrich J, Garn H, Koletzko S, Lack G, Mattelio G, Renz H, Sangild PT, Schrezenmeir J, Stulnig TM, Thymann T, Wold AE, Koletzko

B. Early nutrition and immunity – progress and perspectives. *Br J Nutr.* 2006 Oct;96(4):774–90.

✓ Canada FJ, Law WC, Rando RR, Yamamoto T, Derguini F, Nakanishi K: Substrate specificities and mechanism in the enzymatic processing of vitamin A into 11-cis-retinol. *Biochemistry.* 1990; 29: 9690–9697.

✓ Canfield LM, Giuliano AR, Neilson EM, Yap HH, Graver EJ, Cui HA, Blashill BM. beta-Carotene in breast milk and serum is increased after a single beta-carotene dose. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(1):52–61.

✓ Canfield LM, Giuliano AR, Neilson EM et al. Kinetics of the response of milk and serum β -carotene to daily β -carotene supplementation in healthy, lactating women. *Am J Clin Nutr* 1998;67:276–83.

✓ Canfield LM, Kaminsky RG, Taren DL, et al. Red palm oil in the maternal diet increases provitamin A carotenoids in breastmilk and serum of the mother–infant dyad. *Eur J Nutr.* 2001;40(1):30–8.

✓ Canfield LM, Clandinin MT, Davies DP, ete al. Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers. *Eur J Nutr.* 2003 Jun;42(3):133–41.

✓ Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM, et al. Growth and development of premature infants in relation to ω -3 and ω -6 fatty acid status. *World Rev Nutr Diet* 1994;75:63–69.

✓ Carlson SE, Werkman SH, Rhodes PG, et al. Visual-acuity development in healthy preterm infants: effect of marine oil supplementation. *Am J Clin Nutr* 1993;58:35–42.

✓ Carlson SE, Werkman SH. A randomized trial of visual attention of preterm infants fed Docosahexaenoic acid until 2 months. *Lipids* 1996;31:85–90.

✓ Carlson SE. Perceptual and cognitive function: methods of assessment and relation to LC-PUFA status during infancy. En: Carlson

SE, ed. Assessment of infant visual and cognitive function in relation to long chain polyunsaturated fatty acids. Basel: Neuringer;1996b. p. 49-69.

✓ Carnielli VP, Luijendijk IH, Van Goudoever JB, Sulkers EJ, Boerlage AA, Degenhart HJ, Sauer PJ. Structural position and amount of palmitic acid in infant formulas: effects on fat, fatty acid, and mineral balance. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1996;23(5):553-60.

✓ Clagett-Dame M., Plum L. A. Retinoid-regulated gene expression in neural development. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 1997;7:299-342.

✓ Clamon GH, Sporn MB, Smith JM, Saffiotti U. Alpha and beta-retinyl acetate reverse metaplasias of vitamin A deficiency in hamster trachea in organ culture. *Nature (London)* 1974; 250: 64-66.

✓ Clandinin M.T., Chappell J.E, Leong S., Heim T., Swyer P.R., Chance G.W. Intrauterine fatty acid accretion rates in Human brain: implications for fatty acid requirements. *Early Human Dev.* 1980;4:121-129.

✓ Clawitter J, Trout WE, Burke MC, Araghi S, Roberts RM: A novel family of progesterone-induced, retinol-binding proteins from uterine secretions of the pig. *J Biol Chem.* 1990; 265: 3248-3255.

✓ Codoceo R. Vitamina A. estrategia diagnóstica en sus deficiencias. *Acta pediatr Esp* 1991;49:277-281.

✓ Cohn W and Kuhn H: The role of the low density lipoprotein receptor for alpha-tocopherol delivery to tissues. *Ann N Y Acad Sci.* 1989; 570: 61-72.

✓ Cohn W, Gross P, Grun H, Loechleiter F, Muller DPR and Zulauf M: Tocopherol transport and absorption. *Proc Nutr Soc.* 1992; 51: 179-188.

✓ Connor WE, Neuringer M, Reisbick, S. Essential fatty acids: the importance of ω -3 fatty acids in the retina and brain. *Nutr Rev* 1992;50:21-29.

- ✓ Constantinescu A, Han D and Packer L: Vitamin E recycling in human erythrocytes membranes. *J Biol Chem.* 1993; 15: 10906–10913.
- ✓ Coscina DV, Yehuda S, Dixon LM, et al. Learning is improved by a soybean oil diet in rats. *Life Sci.* 1986;38:1789–1794.
- ✓ Crane FL y Navas P: The diversity of coenzyme Q function. *Mol Aspects Med.* 1997; 18 suppl: 1S–6S.
- ✓ Crawley H and Shergill Bonner R: The nutrient and food intakes of 16–17 years old female dieters in the UK. *J Hum Nutr Diet.* 1995; 8: 25–34.
- ✓ Chappell JE, Clandinin MT, Kearney–Volpe C. Trans fatty acids in human milk lipids : influence of maternal diet and weight loss. *Am J Clin Nutr* 1985;42:49–56.
- ✓ Chappell LC, Seed PT, Kelly FJ, Briley A, Beverly JH, Charnock–Jones DS, Mallet A, and Poston L. Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187:777–84.
- ✓ Chardigny JM, Wiff RL, Mager E, Sébédio JL, Martine L, Juanéda P. Trans mono and polyunsaturated fatty acids in human milk. *Eur J Clin Nutr* 1995;49:523–31
- ✓ Chen CC, Heller J: Uptake of retinol and retinoic acid from serum retinol–binding protein by retinal pigment epithelial cells. *J Biol Chem.* 1977; 252; 5216–5221.
- ✓ Chen LH: Interaction of vitamin E and ascorbic acid. *In Vivo.* 1989; 3: 199–209.
- ✓ Chen ZY, Pelletier G, Hollywood R, Ratnayake WMN. Trans fatty acid isomers in Canadian human milk. *Lipids* 1995;30:15–21.

- ✓ Cherian G Sim J. Changes in the breast milk fatty acids and plasma lipids of nursing mothers following consumption of n-3 polyunsaturated fatty acid enriched eggs. *Nutrition* 1996;12(1):8-12.

- ✓ Chiswick MI, Johnson M and Wodhall C: protective effect of vitamin E (dl-alpha-tocopherol) against intraventricular haemorrhage in premature babies. *Brit. Med. J.* 1983; 287:81-84.

- ✓ Chow CK: Vitamin E in plasma, erythrocytes and erythrocytes membranes. *Biol Synth Membr.* 1989; 445-451.

- ✓ Chytil F and Ong DE: Cellular retinoid-binding proteins, en: *The retinoids*, Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS. Eds. Vol. 2, Capitulo 9, Academic Press, Nueva York. 1984; 89-123.

- ✓ Chytil F and Ong DE: Cellular retinol- and retinoid acid-binding proteins in vitamin A action. *Fed Proc.* 1979; 38: 1510-1514.

- ✓ De Lucchi C, Pita ML, Faus MJ, Periago JL, Gil A. influences of diet and postnatal age on the lipid composition of red blood cell membrane in newborn infants. *Ann Nutr Metab* 1998;32:231-9.

- ✓ Del Prado M, Villalpando S, Elizondo A, Rodríguez M, Demmelmair H, Koletzko B. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *Am J Clin Nutr.* 2001 Aug;74(2):242-7.

- ✓ Cathy Debier: Vitamin E During Pre- and Postnatal Periods. *Vitamins & Hormones* 2007; 76: 357-373.

- ✓ Decker EA. The role of stereospecific saturated fatty acid position on lipid nutrition. *Nutr Rev.* 1996;54:108-110.

- ✓ Decsi T, Koletzko B. Do trans fatty acids impair linoleic and metabolism in children?. *Ann Nutr Metab* 1995;39:36-41.

- ✓ Decsi T, Campoy C, Koletzko B. Effect of N-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy: the Nuheal trial. *Adv Exp Med Biol.* 2005;569:109-13.

- ✓ Del Prado M, Villalpando S, Elizondo A, Rodriguez M, Demmelmair H, Koletzko B. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 74, N°.2, 242-247

- ✓ Demmelmair H, von Schenck U, Behrendt E, Sauerwald T, Koletzko B. Estimation of arachidonic acid synthesis in full term neonates using natural variation of ¹³C content. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;21(1):31-6.

- ✓ Demmelmair H, Sauerwald T, Fidler N, Baumheuer M, Koletzko B. Polyunsaturated Fatty Acid metabolism during lactation. *World Rev Nutr Diet.* Basel, Karger, 2001, vol 88, pp 184-189.

- ✓ Diem K and Lentner C (eds.): *Tablas científicas.* En *Documenta Geigy* 7ª Edición. Barcelona. Ed Geigy Division Farmacéutica 1975.

- ✓ Directiva 96/4/CE de la commission Europea. *Diario oficial de las comunidades Europeas.* 28.2.96.

- ✓ Doba T, Burton GW and Ingold KU: Antioxidant and co-antioxidant effect of vitamin C. The effect of vitamin C, either alone or in the presence of vitamin E or a water-soluble vitamin E analog, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes. *Biochim Biophys Acta.* 1985; 835: 298-303.

- ✓ Doba T, Burton Gw, Ingold KU and Matsuo M: α - Tocopheroxyl decay: lack of effect of oxygen. *J Chem Soc Chem Comm.* 1984; 461-462.

- ✓ Dominguez Ortega, F. Santana Reyes, C. Reyes Suarez, D. Quinteiro Gonzalez, S. Calvo Rosales, J. Análisis de la composición de ácidos

grasos en calostro y leche de transición. *An Esp Pediatr* 1997;46:455-459.

✓ Dorea JG. Oral contraceptives do not affect magnesium in breast milk. *Int J Gynaecol Obstet*. 2000 Oct;71(1):25-31.

✓ Drevon CA. Absorption, metabolism, and excretion of vitamin E. En: M Mino, H Nakamura, AT Diplock, HJ Kayden (eds). *Vitamine E-Its Usefulness in Health and in Curing Diseases*, Jpn. Sci. Soc. Tokyo, Japan and Basel, Switzerland: Press Press and Karger; 1993. pp.65-83.

✓ Dutta-Roy AK, Leishman DJ, Gordon MJ, Campbell FM and Duthie GG: Identification of a low molecular mass (14.2KDa) alpha-tocopherol-binding protein in the cytosol of rat liver and heart. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993; 196(3): 1108-1112.

✓ Ehrenkranz RA, Bonta BW; Ablow RC and Warshaw JB: Amelioration of bronchopulmonary dysplasia after vitamin E administration. A preliminary report. *N Engl J Med*. 1978;299:564-569.

✓ Eichele G: Retinoids in embryonic development. *Ann NY Acad Sci*. 1992; 678: 22-36.

✓ Emmett PM, Rogers IS. Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition. *Early Hum Dev*. 1997 Oct 29;49 Suppl:S7-28.

✓ Erney RM, Malone WT, Skelding MB, Marcon AA, Kleman-Leyer KM, O'Ryan ML, Ruiz-Palacios G, Hilty MD, Pickering LK, Prieto PA. Variability of human milk neutral oligosaccharides in a diverse population. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000;30(2):181-92.

✓ ESPGHAN committee on nutrition. Guidelines on infant nutrition: I. recommendations for the composition of an adapted formula. *Acta paediatr scand* 1977; 262(suppl):1-20.

- ✓ ESPGHAN committee on nutrition. Guidelines on infant nutrition:III recommendations for infant feeding. *Acta paediatr scand* 1982(suppl); 302:1–27.
- ✓ Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H and Jurgens G: The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Rad Biol Med*. 1992; 13: 341–390.
- ✓ Evans HM, Bishop KS: on the existence of an hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*. 1922; 56:650–651.
- ✓ Evans HM, Emerson OH and Emerson GA: The isolation from wheat germ oil of alcohol, alfa-thocopherol, having the properties of vitamin E. *J. Biol. Chem* 1936; 113:319–332.
- ✓ Evans HM: The pionerr history of vitamin E. *Vitam Hormon*. 1962; 20:379–387.
- ✓ Farrel PM, Zachman RD and Gutcher GR: Fat soluble vitamins A, E and K in the premature infant. In: Tsang R (ed): *vitamin and mineral requeriments in preterm infants*. New York. Ed. Marcel Dekker. 1985; pp 63–98.
- ✓ Feeley RM, Eitenmiller RR, Jones JB Jr, Barnhart H. Calcium, phosphorus, and magnesium contents of human milk during early lactation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1983;2(2):262–7.
- ✓ Fernandez-Bañares F, Gines JJ, Cabre E, Abad-Lacruz A, Esteve-Comas M, Gonzalez-Huix F, Gasull MA: Factors associated with low values of biochemical vitamin parameters in healthy subjects. *Int J Vit Nutr Res* 1993; 63: 68–74
- ✓ Fernholz E: On the constitution of alpha-tocopherol. *J. Am. Chem. Soc*. 1938; 60:700–705.

-
- ✓ Fex G, Johannesson G: Studies of the spontaneous transfer of retinol from the retinol:retinol-binding protein complex to unilamellar liposomes. *Biochim Biophys Acta*. 1987; 901: 255–264.
 - ✓ Fidler N, Sauerwald T, Pohl A, Demmelmair H, Koletzko B. Docosahexaenoic acid transfer into human milk after dietary supplementation : a randomized clinical trial. *Journal of Lipid Research* 2000. 41:1376–83.
 - ✓ Filer LJ, Rumery RE, Yu PNG, Mason KE. Studies on vitamin E deficiency in the monkey. *Ann NY. Acad. Sci.* 1949;52:284–291.
 - ✓ Filer Lj, Wright Sw, Manning Mp, Mason Ke: Absorption of alfa-tocopherol and tocopheryl esters by premature and full term infants and children in health and disease. *Pediatrics*. 1951; 8:328–329.
 - ✓ Finley DA, Lonnerdal B, Dewey KG, Grivetti LE, Breast milk composition: fat content and fatty acid composition in vegetarians and no-vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1985;41(4):787–800.
 - ✓ Flannery JgG O`Day W, Pfeffer BA, Horowitzj, Bok D: Uptake, processing and release of retinoids by cultured human retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res*. 1990; 51: 717–728.
 - ✓ Fomon SJ. *Nutrición del lactante*. Madrid: Mosby–doyma Libros, 1995.
 - ✓ Fraga CG, Zamora R and Tappel AR: Damage to protein syntesis concurrent with lipid peroxidation in rat liver slices: effect of halogenated compounds: peroxides and vitamin E. *Arch Biochem Biophys*. 1989; 270: 84–91.
 - ✓ Francois CA, Connor SL, Wander RC, Connor WE. Acute effects of dietary fatty acids on the fatty acids of human milk. *Am J Clin Nutr* 1998;67:301–8.
 - ✓ Fritsma G. Vitamin E and autoxidation. *Am J Med Tech* 1983; 49: 453–456.

- ✓ Frolik CA: Metabolism of retinoids. In *The Retinoids*, ed. MB Sporn, AB Roberts, DS Goodman. 1984; 2: 177–208. Orlando: Academic.
- ✓ Fukuzawa K, Iketaba W and Sohmi K: Location, antioxidant and recycling dynamics of alpha-tocopherol in liposome membranes. *J Nutr Sci Vitaminol*. 1993; 39: 9–22.
- ✓ Gallo-Torres HE: Obligatory role of bile for the intestinal absorption of vitamin E. *Lipids*. 1970; 5: 379–384.
- ✓ Garcia-Fuentes M, Garcia-Calatayud S, Redondo C. Ácidos grasos poliinsaturados y desarrollo cerebral. En: *Nutrición en Pediatría*. 2ª Edición. Santander, 2003.
- ✓ Gerlach Th, Zile MH: Metabolism and secretion of retinol transport complex in acute renal failure. *J Lipid Res*. 1991; 32: 515–520.
- ✓ German JB, Dillard CJ. Composition, structure and absorption of milk lipids: a source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2006;46(1):57–92.
- ✓ Gerster H: Vitamin A- Functions, dietary requirements and safety in humans. *Internat J Vit Res*. 1997; 67: 71–90.
- ✓ Giasuddin ASM and Diplock AT: The influence of vitamin E and membrane lipids of mouse fibroblasts in culture. *Arch Biochem Biophys*. 1981; 210: 348–362.
- ✓ Gibson RS. Technological approaches to combatting iron deficiency. *Eur J Clin Nutr*. 1997;51 Suppl 4:S25–7. Review.
- ✓ Gibson RA, Neumann MA, Makrides M. Effect of increasing breast milk docosahexaenoic acid on plasma and erythrocyte phospholipid fatty acids and neural indices of exclusively breast fed infants. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:S78–S84.

-
- ✓ Gjoent, Bjerkelund T, Blomhoff Hk, Norum Kr, Berg T, Blomhoff R: Liver takes up retinol-binding protein from plasma. *J Biol Chem.* 1987; 262: 10926–10930.

 - ✓ Gonzalez–Corbella MJ, Lloberas–Blanch N, Castellote–Bargallo AI, López–Sabater MC, Rivero–Urgell M: determination of α -tocopherol in plasma and erythrocytes by high–performance liquid chromatography. *J chromat b* 1994; 660: 395–400.

 - ✓ Goodman DS and Blaner WS: Biosynthesis, absorption and hepatic metabolism of retinol. En Sporn MB, Roberts AB and Goodman DS, eds. *The Retinoids*. Vol. 2. Academic Press: Orlando, Florida. 1984. Pp 1–39.

 - ✓ Goodman DS: Vitamin A metabolism and the liver, in the liver, biology and pathology, 2nd Ed. Arias, I. M. y col. Eds. Raven Press, Nueva York. 1988; 467–474.

 - ✓ Gordon HH, De Metry JP: Hemolysis in hydrogen peroxide of erythrocytes of premature infants. Effects of alpha-tocopherol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1952; 79:446–450.

 - ✓ Gossage CP, Deyhim M, Yamini S, et al. Carotenoid composition of human milk during the first month postpartum and the response to β -carotene supplementation. *Am J Clin Nutr* 2002;76:193–7.

 - ✓ Greenwood CE, Winocur G. influence of dietary fat on brain membrane phospholipid fatty acid composition and neural function in mature rats. *Behav Neural Biol.* 1990;53:74–87.

 - ✓ Green MH, Green JB, Lewis KC: Variation in retinol utilization rate with vitamin A status in the rat. *J Nutr.* 1987b; 117: 694–703.

 - ✓ Green MH, Green JB: Multicompartmental analysis of whole body retinol dynamics in vitamin A-sufficient rats. *Fed Proc.* 1987a; 46: 1011.

- ✓ Green MH, Uhl L, Green JB: A multicompartamental model of vitamin A kinetics in rats with marginal liver vitamin A stores. *J Lipid Res.* 1985; 26: 806–818.
- ✓ Grigro'eva MP, Fateeva EM, Gmoshinskaia MV, et al. Contents of vitamins A, E and beta-carotene in human milk depending on the character of maternal nutrition. *Vopr Pitan.* 1991 Jan–Feb;(1):27–30.
- ✓ György PG and Rose CS: Effect of dietary factors on early mortality and hemoglobinuria in rats following administration of alloxan. *Science.* 1948; 108:716–718.
- ✓ Hachey DL, Thomas MR, Emken EA, et al. Human lactation: maternal transfer of dietary triglycerides labeled with stable isotopes. *J Lipid res* 1987;28:1185–92.
- ✓ Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T. The effects of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. *J Nutr.* 1991;121(2):165–9.
- ✓ Hamosh M. Milk fat globule glycoproteins in human milk and in gastric aspirates of mother's milk-fed preterm infants. *Pediatr Res.* 1998;44(4):499–506.
- ✓ Harzer G, Haugh M, Dieterich I, Gentner P R. Changing patterns of human milk lipids in the course of lactation and during the day. *Am J Clin Nutr* 1983;37:612–621
- ✓ Harzer G, Franzke V, Bindels JG. Human milk nonprotein nitrogen components: changing patterns of free amino acids and urea in the course of early lactation. *Am J Clin Nutr.* 1984 Aug;40(2):303–9.
- ✓ Hassan H, Hashim SA, Van Itallie TB and Sebrel WH: Syndrome in premature infants associated with low plasma vitamin E levels and high polyunsaturated fatty acid diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 1966; 19: 147–157.

-
- ✓ Harris WG, Flaherty C, Philip J. Breast self-examination. *Lancet*. 1984 24;2(8413):1214.

 - ✓ Hay Hd, Morrison Wr. Isomeric monoenoic fatty acids in bovine milk fat. *Biochim Biophys Acta* 1970;202:237-43.

 - ✓ Hayat L, al-Sughayer MA, Afzal M. Fatty acid composition of human milk in Kuwaiti mothers. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1999;124(3):261-7.

 - ✓ Hawkes JS, Bryan DL, Gibson RA. Cytokine production by human milk cells and peripheral blood mononuclear cells from the same mothers. *J Clin Immunol*. 2002;22(6):338-44.

 - ✓ Heird WC. The role of polyunsaturated fatty acids in term and preterm infants and breastfeeding mothers. *Pediatr Clin North Am*. 2001 48(1):173-88.

 - ✓ Heird WC. The role of polyunsaturated fatty acids in term and preterm infants and breastfeeding mothers. *Pediatr Clin North Am*. 2001 Feb;48(1):173-88.

 - ✓ Helgerud P, Petersen Lb, Norum KR: Acyl CoA: retinyl acyltransferase in rat small intestine: its activity and some properties of the enzymatic reaction. *J Lipid Res*. 1982; 23: 609-618.

 - ✓ Helland IB, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Fatty acid composition in maternal milk and plasma during supplementation with cod liver oil. *Eur J Clin Nutr*. 1998 52(11):839-45.

 - ✓ Helland IB, Saugstad OD, Smith L, Saarem K, Solvoll K, Ganes T, Drevon CA. Similar effects on infants of n-3 and n-6 fatty acids supplementation to pregnant and lactating women. *Pediatrics*. 2001 Nov;108(5):E82

 - ✓ Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy

and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics*. 2003 Jan;111(1):e39-44.

✓ Heller J, Bok D: A specific receptor for retinol-binding protein as detected by the binding of human and bovine retinol binding protein to pigment epithelial cells. *Am J Ophthalmol*. 1976; 81: 93-97.

✓ Heller J: Interactions of plasma retinol-binding protein with its receptor. Specific binding of bovine and human retinol-binding protein to pigment epithelium cells from bovine eyes. *J Biol Chem*. 1975; 250: 3613-3619.

✓ Henderson RA, Jensen RG, Lammi-Keefe CJ, Ferris AM, Dardick KR. Effect of fish oil on fatty acid composition of human milk and maternal and infant erythrocytes. *Lipids* 1992; 27:863-9.

✓ Hendrickson AE, Movshon JA, Eggers HM, Gizzi MS, Boothe RG, Kiorpes L. Effects of early unilateral blur on the macaque's visual system. II. Anatomical observations. *J Neurosci* 1987; 7:1327-1339.

✓ Hendriks HFJ, Elhanany E, Brouwer A, De Leeuw AM, Knook DL: Uptake and processing of (³H) retinoids in rat liver studied by electron microscopic autoradiography. *Hepatology*. 1988; 8: 276-285.

✓ Henriksen C, Helland IB, Ronnestad A, et al. Fat-soluble vitamins in breast-fed preterm and term infants. *Eur J Clin Nutr*. 2006 Feb 1;

✓ Herbet J, Cavallaro T, Martone R: The distribution of retinol-binding protein and its mRNA in the rat eye. *Invest Ophthalmol Visual Sci*. 1991; 32: 302-309.

✓ Hercberg S, Preziosi P, Galan P, Devanlay M, Keller H, Bourgeois C: Vitamin status of a healthy French population; dietary intakes and biochemical markers. *Int J Vit Nutr Res* 1994; 64: 220-232.

-
- ✓ Herrera E, Castro M, Lasuncion MA y Entrala A: Metabolismo de la vitamina A y su relación con las lipoproteínas circulantes. *Nutrición clínica*. 1989; 9 (5): 165-177.
 - ✓ Heseker H, Kohlmeier M, Schneider R, Speitling A and Kubler W: Vitaminversorgung Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland. *Ernährungs-Umschau*. 1991; 38: 227-233.
 - ✓ Hittner HM, Godio LB, Pudolph AJ, Adams JM, García-Prats JA, Friedman Z, Kautz JA and Monaco WA: Retrolental fibroplasias: efficacy of vitamin E a double-blind clinical study of preterm infants. *N Eng J Med*. 1981; 305:1365-1371.
 - ✓ Hollander D, Rim E, Muralidhara KH. Mechanism and site of small intestinal absorption of alpha-tocopherol in the rat. *Gastroenterology* 1975; 68: 1492-1499.
 - ✓ Hollander D. Intestinal absorption of vitamins A, E, D and K. *J Lab Clin Med* 1981; 97; 449-462.
 - ✓ Hoppu U, Salo-Väänänen P, Lampi AM, Isolauri E.: Serum alpha- and gamma-tocopherol levels in atopic mothers and their infants are correlated. *Biol Neonate*. 2005; 88(1):24-6.
 - ✓ Hoppu U, Rinne M, Salo-Väänänen P, Lampi AM, Piironen V, Isolauri E. Vitamin C in breast milk may reduce the risk of atopy in the infant. *Eur J Clin Nutr*. 2005 Jan; 59(1):123-8.
 - ✓ Horinaka M, Murohisa T, Tateo K and Harada T: Protection of cellular alpha-tocopherol by intracellular glutathione in human erythrocytes. *Dokkyo J Med Sci*. 1992; 19: 75-85.
 - ✓ Horwitt MK, Elliot WH, Kanjanangulpan P and Fitch CD: Serum concentrations of alpha-tocopherol after ingestion of various vitamin E preparations. *Am J Clin Nutr*. 1984; 40: 240-245.
 - ✓ Horwitt MK: Vitamin E: a reexamination. *Am. J. Clin. Nutr*. 1976; 29:569-578.

- ✓ Horwood LJ, Fergusson DM. Breastfeeding and later cognitive and academic outcomes. *Pediatrics* 1998;101:9.
- ✓ Hulshof KFAN, Van Erp-Baart MA, Anttolainen M, Becker W, et al. Intake of fatty acids in western Europe with emphasis on trans fatty acids: the TRANSFAIR study. *Eur J Clin Nutr.* 1999;53:143–57.
- ✓ Humphrey JH, West KP, Sommer A. vitamin A deficiency and attributable mortality among under 5 year olds. *WHO Bulletin OMS* 1992;70:225–32.
- ✓ Hunter JE. Studies on effects of dietary fatty acids as related to their position on triglycerides. *Lipids* 2001;36:655–668.
- ✓ Innis SM and Elias SL. Intakes of essential n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids among Canadian women. *Am J Clin Nutr* 2003;77:473–8.
- ✓ Innis SM. n-3 fatty acid requirements of the newborn. *Lipids.* 1992;27(11):879–85.
- ✓ Innis SM, Nelson CM, Lwanga D, et al. Feeding formula without arachidonic and docosahexaenoic acid has no effect on preferential looking acuity or recognition memory in healthy full term infants at 9 months. *Am J Clin Nutr* 1996;64:40–46.
- ✓ Innis SM, King DJ. Trans fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential all-cis n-6 and n-3 fatty acids and determine trans, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1999;70:383–90.
- ✓ Innis SM, Elias SL. Intakes of essential n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids among pregnant Canadian women. *Am J Clin Nutr.* 2003 Feb;77(2):473–8.

-
- ✓ Innis S. Polyunsaturated fatty acids in human milk. An essential role in infant development. In: Pickering et al. (eds.): *Protecting Infants through Human Milk*. Ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2004; pp. 27–43.

 - ✓ Isler O, Bermond P: vitamines et industrie pharmaceutique: des origenes á la synthèse et aux applications. *Rev Franç Diét.* 1970;14(52):35.

 - ✓ Isolauri E, Tahvanainen A, Peltola T, Arvola T. Breast-feeding on allergic infants. *J Pediatr* 1999;134:27–32.

 - ✓ Ito Y, Ochiai J, Sasaki R, Suzuli S, Kasuhara Y, Morimitsu Y: Serum concentrations of carotenoids, retinol, and α -tocopherol in healthy persons determined by high performance liquid chromatography. *Clin Chim Acta* 1990; 194: 131–144.

 - ✓ Janowsky J, Scott DT, Wheeler RE, Auestad N. Fatty acids affect early language development. *Pediatr Res* 1995;37:310A.

 - ✓ Jansson L, Åkesson B, Holmberg L: Vitamin E and fatty acid composition of human milk. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34: 8–13.

 - ✓ Janson L, Lindroth M and Työppönen J: Absorción intestinal de vitamina E en recién nacidos de bajo peso. *Acta Paediatr Scand.* (ed. Esp) 1984;1:315–318.

 - ✓ Jensen CL, Maude M, Anderson RE, Heird WC. Effect of Docosahexaenoic acid supplementation of lactating woman on the fatty acid composition of breast milk lipids and maternal and infant plasma phospholipids. *Am J Nutr* 2000;71(suppl):292S–95S.

 - ✓ Jensen DL, Voigt RG, Prager TC, Zou YL, Fraley JK, Rozelle JC, Turcich MR, Llorente AM, Anderson RE, Heird WC. Effects of maternal docosahexaenoic acid intake on visual function and neurodevelopment in breastfed term infants. *Am J Clin Nutr* 2005;82:125–32.

 - ✓ Jensen RG, The lipids of human milk. *Prog Lipid Res* 1996;35:53–92.

- ✓ Jhonson L, Schaffer D and Boggs Tr: The premature infant, vitamin E deficiency and retrolental fibroplasias. *Am. J. Clin. Nutr.*1974; 27: 1158.
- ✓ Jiménez Cruz A, Cervera Rol P, Bacardi Gascon M. Tabla de composición de los alimentos. Sandoz Nutrición. Barcelona. 1990
- ✓ JOINT FAO/WHO EXPERT CONSULTATION. Requeriments of vitamin A, Iron, Folate and Vitamin B12. FAO Food and Nutrition Report Serie 41. Rome. 1988.
- ✓ Jorgensen MH, Hernell O, Lund P, et al. Visual acuity and erythrocyte docosahexaenoic acid status in breast-fed and formula-fed term infants during the first four months of life. *Lipids* 1996;31:99-105.
- ✓ Kagan VE, Serbinova EA, Forte T, Scita G and Packer L: Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1992; 33: 385-397.
- ✓ Kallio MJ, Siimes MA, Perheentupa J, Salmenpera L, Miettinen TA. Serum cholesterol and lipoprotein concentrations in mothers during and after prolonged exclusive lactation. *Metabolism.* 1992;41(12):1327-30.
- ✓ Kameyama T, Ohhara T, Nakashima Y, et al. Effects of dietary vegetable oils on behaviour and drug responses in mice. *Biol Pharm Bull.* 1996;19:400-404.
- ✓ Kankaanpää P, Nurmela K, Erkkilä A, Kalliomäki M, holmberg-marttila D, Salminen S, Isolauri E. Polyunsaturated fatty acids in maternal diet, breast milk and serum lipid fatty acids of infants in relation to atopy. *Allergy* 2001;56:633-8.
- ✓ Kaplowitz N, Yoshida H, Kuhlenkamp J, Slitsky B, Ren I and stolz A: Tocopherol-binding proteins of hepatic cytosol. *Ann N Y Acad Sci.* 1989; 570: 85-93.

-
- ✓ Kaseki H, Kim EY, Whisler RL, Cornwell DG: Effect of an oral dose of vitamin E on the vitamin E cholesterol content of tissue of the vitamin E-deficiency rat. *J Nutr* 1986; 116: 1631–1639.
 - ✓ Kayden HJ and Bjornson L: The dynamics of vitamin E transport in the human erythrocyte. *Ann N Y Acad Sci.* 1972; 203: 127–140.
 - ✓ Kayden HJ and Traber MG: Transport of vitamin E in human lipoproteins. En: M Mino, H Nakamura, AT Diplock, HJ Kayden, eds. *Vitam. E-Its Usefulness in Health and in Curing Diseases*, Lpn. Sci. Soc. Press Press and Karger: Tokyo. Japan and Basel. 1993; 85–94.
 - ✓ Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA: Evaluation of the vitamin status in nursing women by vitamin content in breast milk. *Bull Exp Biol Med.* 2006 Mar; 141(3):323–7.
 - ✓ Koletzko B, Agostoni C, Carlson SE, et al. Long Chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Paediatr* 2001a; 90:460–464.
 - ✓ Koletzko B, Mrotzet M, Bremen HJ. Fatty acid composition of mature milk in Germany. *Am J Clin Nutr* 1988; 47(6):954–9.
 - ✓ Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, et al. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum Dev* 2001b; 65(suppl):S3–S18.
 - ✓ Koletzko B, Rodriguez Palmero M. polyunsaturated fatty acids in human milk and their role in early infant developmet. *J Mammary Gland Biol Lactation* 1999; 4(3):269–84.
 - ✓ Koletzko B, Thiel I, Abiodum PO. Fatty acid composition of mature human milk in Nigeria. *Z Ernährungswiss* 1991a; 30(4):289–97.
 - ✓ Koletzko B, Zufuhr, Stoffwechsel und biologische Wirkungen trans-isomerer fettsäuren bei Säuglingen. *Die Nahrung* 1991b; 35:229–83.

- ✓ Koletzko B, Thiel I, Springer S. Lipids in human milk: a model for infant formulas? *Eur J Clin Nutr* 1992a; 46:S45–S55.

- ✓ Koletzko B, Thiel I, Abiodum PO. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa (see comments). *J Pediatr* 1992b; 120 (4 Pt 2):62–70.

- ✓ Koletzko B. Trans fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man. *Acta Paediatr* 1992c; 81:302–6.

- ✓ Koletzko B. Fats for brains. *Eur J Clin Nutr* 1992d; 46(suppl 1): S51–62.

- ✓ Koletzko B, Maria Rodriguez–Palmero, Hans Demmelmair, Natsa Fidler, Robert Jensen, Thorsten Sauerwald. Physiological aspects of human milk lipids. *Early human development* 65 suppl. (2001) S3–S18.

- ✓ Koletzko B, Cetin I, Brenna J; for the Perinatal Lipid Intake Working Group. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women *Brit J Nutr* 428 2007; doi:10.1017/S0007114507764747

- ✓ Koletzko B, Lien E, Agostoni C, Böhles H, Campoy C, Cetin I, Decsi T, Dudenhausen JW, Dupont C, Forsyth S, Hoesli I, Holzgreve W, Lapillonne A, Putet G, Secher NJ, Symonds M, Szajewska H, Willatts P, Uauy R. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *J Perinat Med*. 2008; 36(1):5–14.

- ✓ Kostner GM, Oettl K, Jauhiainen M, Ehnholm C, Esterbauer H and Dieplinger H: Human plasma phospholipid transfer protein accelerates exchange/transfer of alpha-tocopherol between lipoproteins and cells. *Biochem J*. 1995; 15: 305 (2): 659–667.

- ✓ Krasevec JM, Jones PJ, Cabrera–Hernandez A, Mayer DL, Connor WE. Maternal and infant essential fatty acid status in Havana, Cuba. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 834–44.

-
- ✓ Kris–Etherton PM, Taylor DS, Yu–Poth S, Huth P, Moriarty K, Fishell V, Hargrove RL, Zhao G, Etherton TD. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71 (1 Suppl):179S–88S.

 - ✓ Kubalak S. W., Sucov H. M. Retinoids in heart development. Harvey R. P. Rosenthal N. eds. *Heart Development 1999:209–219 Academic Press San Diego, CA.*

 - ✓ Kuhlenkamp J, Ronk M, Yusin M, Stolz A, Kaplowitz N: Identification and purification of a human liver cytosolic tocopherol binding protein. *Prot Expr Pur* 1993; 4: 382–389.

 - ✓ Laegreid A, Kolsto OA, Trace amounts of ganglioside GM1 in human milk inhibit enterotoxin from *Vibrio Cholerae* and *Escherichia Coli*. *Life Sci* 1987;40(1):55–62.

 - ✓ Laitinen K, Hoppu U, Hamalainen M, et al. Breast milk fatty acids may link innate and adaptive immune regulation: Analysis of soluble CD14, prostaglandin E2, and fatty acids. *Pediatr Res.* 2006 May;59(5):723–7.

 - ✓ Lammi–Keefe CJ, Jonas CR, Ferris AM, Capacchione CM. Vitamin E in plasma and milk of lactating women with insulin–dependent diabetes mellitus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;20(3):305–9.

 - ✓ Lamptey M, Walker B. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. *J nutr.* 1976;106:86–93.

 - ✓ Larqué D, Zamora S, Gil A: Dietary trans fatty acids affect the essential fatty–acid concentration of rat milk. *J Nutr* 2000;130:847–51.

 - ✓ Larqué E, Krauss–Etschmann S, Campoy C, Hartl D, Linde J, Klingler M, Demmelmair H, Cano A, Gil A, Bondy B, Koletzko B. Docosahexaenoic acid supply in pregnancy affects placental expression of fatty acid transport proteins. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(4):853–61.

- ✓ Laskey MA, Prentice A, Hanratty LA, Jarjou LM, Dibba B, Beavan SR, Cole TJ. Bone changes after 3 mo of lactation: influence of calcium intake, breast-milk output, and vitamin D-receptor genotype. *Am J Clin Nutr.* 1998 67(4):685-92.

- ✓ Lauritzen L, Jorgensen MH, Mikkelsen TB, Skovgaard M, et al. Maternal fish oil supplementation in lactation: effect on visual acuity and n-3 fatty acid content of infant erythrocytes. *Lipids.* 2004;39(3):195-206.

- ✓ Leboulanger J: Las vitaminas. Ed. Servicio Científico Laboratorios Roche. Madrid. 1981; 61-68.

- ✓ Lehmann J, Marshall Mw, Judd JT: Effects of two levels of linoleic acid and known amounts of tocopherol levels of plasma, RBC, and platelets of adult men. *Fed Proc* 1984; 43: A487

- ✓ Lehmann J, Rao DD, Canary JJ, Judd JT: Vitamin E and relationships among tocopherols in human plasma, platelets, lymphocytes and red blood cells. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 470-474.

- ✓ Lemons JA Y Maisels MJ: Vitamina E ¿Cuánto es demasiado?. *Pediatrics* (ed. esp.). 1985; 20: 215-217.

- ✓ Leo MA, Lieber CS: New pathway for retinol metabolism in liver microsomes. *J Biol chem.* 1985; 260: 5228-5231.

- ✓ Lepage G, Roy CC: Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *J Lipid Res* 1986; 27: 114-20.

- ✓ Levin AA, Sturzenbecker LJ, Kazner S, Bosakowski T, Huselton C, et al: 9-cis-retinoic acid stereoisomer binds and activates the nuclear receptor RXRa. *Nature* 1992; 355: 359-361.

- ✓ Lewis KC, Green MH, Green JB, Zerch LA: Retinol metabolism in rats with low vitamin A status: a compartmental model. *J Lipid Res.* 1990; 31: 1535-1548.

-
- ✓ Lewis KC, Green MH, Underwood BA: Vitamin A turnover in rats as influenced by vitamin A status. *J Nutr.* 1981; 111: 1135–1144.

 - ✓ Lietz G, Henry CJ, Mulokozi G, Mugyabuso JK, Ballart A, Ndossi GD, Lorri W, Tomkins A. Comparison of the effects of supplemental red palm oil and sunflower oil on maternal vitamin A status. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(4):501–9.

 - ✓ Linder MC: Nutrición y metabolismo de las vitaminas. Vitamina E. En: LINDER MC (Ed.): Nutrición, aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos. EUNSA. Navarra. 1985: 152–160.

 - ✓ Litov RE, Combs GF. Selenium in pediatric nutrition. *Pediatrics* 1991;87:339–359.

 - ✓ López-López A, Castellote-Bargalló AI, López-Sabater MC: Comparison of two direct methods for the determination of fatty acid in human milk. *Chromatographia* 2001; 54: 743–747.

 - ✓ López-López A, Castellote AI, Campoy C, Rivero M, Tormo R, Infante D, López-Sabater: The influence of dietary palmitic acid triacylglyceride position on the fatty acid, calcium and magnesium contents of at term newborn faeces. *EHDEDN*; 2001: 65 (suppl.): S83–S94.

 - ✓ López-López A, López-Sabater MC; Campoy-Folgozo C, Rivero M, Castellote AI: Fatty acid and sn-2 fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and in infant formulas. *Eur J Clin Nutr.* 2002; 56:1242–1254.

 - ✓ Lucas A, Morley R, Cole TJ, et al. Breast milk and subsequent intelligent quotient in children born preterm. *Lancet* 1992;339:261–264.

 - ✓ M, Raz A, Goodman DS: Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest.* 1968; 47: 2025–2044.

- ✓ Macdonald PN, ONG DE: Evidence for a lecithin-retinol acyltransferase activity in the rat small intestine. *J Biol Chem.* 1988; 263: 12478–12482.

- ✓ Machlin LJ: *Vitamin E: A comprehensive treatise.* Marcel Dekker. New York. 1980.

- ✓ Macias C, Schweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab.* 2001;45(2):82–5.

- ✓ MacLean WC Jr, Fink BB. Lactose malabsorption by premature infants: magnitude and clinical significance. *J Pediatr.* 1980;97(3):383–8.

- ✓ Maden M. Retinoids in neural development. Nau H. Blaner W.S. eds. *Handbook of Experimental Pharmacology, Retinoids, The Biochemical and Molecular Basis of vitamin A and Retinoid action* 1999;139:399–442 Springer-Verlag Heidelberg, Germany.

- ✓ Maguire JL, Kagan VE and Packer L: Electron transport between cytochrome a and alpha-tocopherol. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 188: 190–197.

- ✓ Maija H. Zile. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. *Journal of Nutrition.* 2001;131:705–708.

- ✓ Maisey S, Loughridge J, Southon S and Fulcher R: Variation in food group and nutrient intake with day of the week in an elderly population. *Br J Nutr.* 1995; 73: 359–373.

- ✓ Makover A, Soprano DR, Wyatt ML, Goodman DS: Localization of retinol-binding protein messenger RNA in the rat kidney and in perinephric fat tissue. *J Lipid Res.* 1989; 30: 171–180.

- ✓ Makrides M and Gibson RA. Long chain polyunsaturated fatty acid requirement during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 2000, 71(suppl):307S–11S.

- ✓ Makrides M, Neumann MA, Gibson RA. Effect of maternal docosahexaenoic acid (DHA) supplementation on breast milk composition *Eur J Clin Nutr* 1996;50:352–357
- ✓ Makrides M, Neumann MA, Simmer K, et al. Are long chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy?. *Lancet* 1995;339:612.
- ✓ Makrides M, Simmer K, Gogging M, et al. Erythrocyte Docosahexaenoic acid correlates with the visual response of healthy term infants. *Pediatr Res* 1993;34:425–427.
- ✓ Mangelsdorf DJ, Umesono K, Kliewer SA, Borgmeyer U, Ong ES, Evans RM: A direct repeat in the cellular retinol-binding protein type II gene confers differential regulation by RXR and RAR. *Cell*. 1991; 66: 555–561.
- ✓ Marks J: *The vitamins in health and disease*. Ed. Churchill Ltd., London. 1975.
- ✓ Marangoni F, Agostini C, Lammardo AM, Bonvissuto M, Giovannini M, Galli C, Riva E. Polyunsaturated fatty acids in maternal plasma and in breast milk. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002;66:535.
- ✓ Marosvolgyi T, Kovacs A, Lohner S, Funke S, Burus I, Decsi T. Fatty acid composition of human milk in mothers of preterm and full-term infants in the first three weeks of lactation] *Orv Hetil*. 2006 6;147(31):1459–63. Hungarian.
- ✓ Martinez RM, Ortega RM, Andres P. Vitamin A concentration in maternal milk: the effect of intake and serum levels of vitamin A during the third trimester of pregnancy *Med Clin (Barc)*. 1997 Nov 1;109(15):583–4.
- ✓ Mason KE and Telford IR: some manifestation of vitamin E deficiency in the monkey. *Arch. Pathol*. 1947; 43:363–373.

- ✓ Massey JB: Kinetic of transfer of alpha-tocopherol between model and native plasma lipoproteins. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1984; 793: 387-392.
- ✓ May JM, Qu ZC and Morrow JD: Interaction of ascorbate and alpha-tocopherol in resealed human erythrocyte ghost. Transmembrane electron transfer and protection from lipid peroxidation. *J Biol Chem*. 1996; 271: 10577-10582.
- ✓ Meister A: Commentary on the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *Biochem Pharmacol*. 1992; 44: 1905-1915.
- ✓ Melhorn DK and Gross S: Vitamin E dependent anaemia in the premature infant. I. Effects of large doses of medianal iron. *J Pediatr*. 1971;79:569-580.
- ✓ Michaelsen KF, Samuelson G, Graham TW, Lonnerdal B. Zinc intake, zinc status and growth in a longitudinal study of healthy Danish infants. *Acta Paediatr*. 1994;83(11):1115-21.
- ✓ Minkowski A: Essai de prévention des hémorragies cerebro-meningées des prématurés par l'administration à la mère, pendant le travail, de substances "anti-fragilité vasculaire". *Arch. Fr. Pediatr*. 1949; 6:276-280.
- ✓ Mino M, Kasugai O, Nagita A: Relationship between red blood cell and liver tocopherol concentration after the administration and depletion of vitamin E. *Int J Vitam Nutr Res* 1985a; 55: 47-51.
- ✓ Morera S, Castellote A, Campoy-Folgoso C, López-Sabater MC: Triacylglycerol composition in colostrum, transition and mature human milk. *Eur J Clin Nutr*. 2000; 54:878-882.
- ✓ Mori TA, Vandongen R, Masarei JR, Stanton KG and Dunbar D: Dietary fish oils increase serum lipids in insulin-dependent diabetics compared with healthy controls. *Metabolism*. 1989; 38(5): 404-409.

-
- ✓ Morinobu T, Tamai H, Tanabe T, Murata T, Manago M, Mino M, Hirahara F: Plasma α -tocopherol, β -carotene, retinol levels in the institutionalized elderly individuals and in young adults. *Int J Vit Nutr Res* 1994 ; 64 :104–108.

 - ✓ Morisot C. La vitamina E...aujourd´ui. *Méd. Infant.*1984;6:545–557.

 - ✓ Moriwaki H, Blaner WS, Piantedosi R, Goodman DS: Effect of dietary retinoid and triglyceride on the lipid composition of rat liver stellate cells and stellate cell lipid droplets. *J Lipid Res.* 1988; 29: 1523–1534.

 - ✓ Mojska H, Socha P, Socha J, et al. Trans fatty acids in human milk in Poland and their association with breastfeeding mothers' diets. *Acta Paediatr.* 2003 Dec;92(12):1369–71.

 - ✓ Moya M, Juste M, Cortes E, Carratala F. Fatty acid composition of mature breast milk according to the mothers diet during pregnancy. *Adv Exp Med Biol.* 2000;478:405–6.

 - ✓ Muhilal H, Glover J: The affinity of retinol and its analogues for retinol-binding protein. 1975; *Biochem Soc Trans.* 1975; 3: 744–746.
 - ✓ Murphy MG: Dietary fatty acids and membrane protein function. *J Nutr Biochem* 1990;1:68–79.

 - ✓ Nalecz K, Nalecz M and Azzi A: Isolation of tocopherol-binding protein from the cytosol of smooth muscle A7R5 cells. *Eur J Biochem.* 1992; 209: 37–42.

 - ✓ Nelson CM, Innis SM, Waslen P, Whitfield M. prospective measures of visual and cognitive development in term gestation breast-fed and formula fed infants to 18 months of age. *Pediatr Res.*1995;37:1873A.

 - ✓ Neuringer M, Reisbick S, Janowsky J. The role of the ω -3 fatty acids in visual and cognitive development: current evidence and methods of assessment. *J Pediatr* 1994;125:39–47.

- ✓ Neuringer M, Weleber R, Murphy W, et al. Electroretinograms in four-month-old full term human infants fed diets differing in long chain ω -3 and ω -6 fatty acids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:S48.
- ✓ Neville M C, Picciano M F. Regulation of milk lipid secretion and composition. *Annu Rev Nutr* 1997;17:159-183
- ✓ Newman V. vitamin A and breast-feeding: a comparison of data from developed and developing countries. *Food Nutr Bull* 1994;15:161-76.
- ✓ Noy N, Blaner WS: Interactions of retinol with binding proteins—studies with rat cellular retinol-binding protein and with rat retinol-binding protein. *Biochemistry*. 1991; 30: 6380-6386.
- ✓ NRC. National Research Council. Commission on Life Sciences, Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1989.
- ✓ Oddy WH, Holt PD, Sly PD, Read AW, Landau LI, Stanley FJ, Kendall GE, Burton PR. Association between breast feeding and asthma in 6 y old children: findings of prospective birth cohort study. *Br Med J* 1999;319:815-9.
- ✓ Ogihara T, Miki M, Kitagawa M and Mino M: Distribution of tocopherol among human plasma lipoproteins. *Clin Chim Acta*. 1988; 174: 299-305.
- ✓ Okaniwa Y, Yuasa S, Yamamoto N, et al. A high linoleate and a high α -linolenate diet induced changes in learning behaviour of rats. Effects of a shift in diets and reversal of training stimuli. *Biol Pharm Bull*. 1996;19:536-540.
- ✓ Olafsbottir AS, Wagner KH, Thorsdottir I: Fat-soluble vitamins in the maternal diet, influence of cod-liver oil supplementation and impact of the maternal diet on human milk composition. *Ann Nutr Metab*. 2001; 45: 265-272.

- ✓ Olafsdottir AS, Thorsdottir I, Wagner KH, et al. Polyunsaturated Fatty Acids in the Diet and Breast Milk of Lactating Icelandic Women with Traditional Fish and Cod Liver Oil Consumption. *Ann Nutr Metab.* 2006 Feb 23;50(3):270–276

- ✓ Olcott HS and Mattill HA: The unsaponifiable lipids of lettuce. II fractionation. *J. Biol. Chem.* 1931; 93:59–64.

- ✓ Olmedilla B, Granado R, Gil-Martinez E, Blanco I and Rojas-Hidalgo E: Reference values for retinol, tocopherol, and main carotenoids in serum of control and insulin-dependent diabetic Spanish subjects. *Clin Chem.* 1997; 43(6): 1066–1071.

- ✓ Olson JA: Vitamin A. En: Machlin L, ed. *The Handbook of vitamins.* Marcel Dekker: New York. 1984.

- ✓ Ong DE, Chytil F: Presence of novel retinoid acid-binding proteins in the lumen of rat epididymis. *Arch Biochem Biophys.* 1988; 267: 474–478.

- ✓ Ortega RM, Andres P, Martinez RM, Lopez-Sobaler AM. Vitamin A status during the third trimester of pregnancy in Spain women: influence of concentration of vitamin A in breast milk. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(6):554–8.

- ✓ Ortega RM, Quintas ME, Andres P, Martinez RM, Lopez-Sobaler AM. Ascorbic acid levels in maternal milk: differences with respect to ascorbic acid status during the third trimester of pregnancy. *Br J Nutr.* 1998;79(5):431–7.

- ✓ Ortega RM, Lopez-Sobaler AM, Quintas ME, Martinez RM, Andres P. The influence of smoking on vitamin C status during the third trimester of pregnancy and on vitamin C levels in maternal milk. *J Am Coll Nutr.* 1998 17(4):379–84.

- ✓ Ortega RM, Martinez RM, Quintas ME, Lopez-Sobaler AM, Andres P. Calcium levels in maternal milk: relationships with calcium intake during the third trimester of pregnancy. *Br J Nutr.* 1998 79(6):501–7.
- ✓ Ortega RM, Andres P, Martinez RM, et al. Vitamin A status during the third trimester of pregnancy in Spanish women: influence on concentrations of vitamin A in breast milk. *Am J Clin Nutr.* 1997 Sep;66(3):564–8.
- ✓ Oskey FA and Barnes LA: Vitamin E deficiency: a previously unrecognized cause of haemolytic anemia in the premature infant. *J. Pediatr.* 1967; 70:211–220.
- ✓ Ottonello S, Petrucco S, Maraini G: Vitamin A uptake from retinol-binding protein in a cell-free system from pigment epithelial cells of bovine retina. *J Biol Chem.* 1987; 262: 3975–3981.
- ✓ Owens WC and Owens EU: Retrolental fibroplasia in premature infants. II studies on the prophylaxis of the disease: the use of alpha-tocopheryl acetate. *Am. J. Ophthalmol.* 1949; 32:1631–1637.
- ✓ Owen CG, Whincup PH, Gilg JA, Cook DG Effect of breast feeding in infancy on blood pressure in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2003 22;327(7425):1189–95
- ✓ Packer JE, Slater TF and Willson RL: Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature.* 1979; 278: 737–738.
- ✓ Packer L: Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53: 105S.
- ✓ Packer L: Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1992; 33: 385–397.
- ✓ Pappenheimer AM and Goetsh M: A cerebellar disorder in chicks, apparently of nutritional origin. *J. Exp. Med.* 1931; 53:11–26.

- ✓ Panpanich R, Vitsupakorn K, Harper G, Brabin B. Serum and breast-milk vitamin A in women during lactation in rural Chiang Mai, Thailand. *Ann Trop Paediatr.* 2002 Dec;22(4):321–4.

- ✓ Patin RV, Vitolo MR, Valverde MA, Carvalho PO, Pastore GM, Lopez FA. The influence of sardine consumption on the omega-3 fatty acid content of mature human milk. *J Pediatr (Rio J).* 2006;82(1):63–9.

- ✓ Pawlosky RJ, Denkins Y, Ward G, Salem NJ. Retinal and brain accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in developing felines: the effects of corn oil-based maternal diets. *Am J Clin Nutr* 1997;65:465–472.

- ✓ Pettersen J, Opstvedt J, trans fatty acids:4. Effects on fatty acid composition of colostrum and milk. *Lipids* 1991;26:711–7.

- ✓ Phelps DL, Vitamina E y hemorragia del sistema nervioso central. 1884;1:145–156.

- ✓ Phelps DL: Vitamina E ¿Dónde estamos?. *Pediatrics* (ed. esp.). 1979; 7: 453–456.

- ✓ Picciano MF. Nutrient composition of human milk. *Ped Clin North Am* 2001;48:53–67.

- ✓ Pons SM, Bargallo AC, Folgoso CC, Lopez Sabater MC. Triacylglycerol composition in colostrum, transitional and mature human milk. *Eur J Clin Nutr.* 2000; 54(12):878–82.

- ✓ Potter AR: Reducing vitamin A deficiency. *B M J.* 1997 (1 February): 314–317.

- ✓ Poulik MF, Farrah D, Malek GH, Shinnick CJ, Smithies O: Low molecular weight urinary proteins. I. Partial amino acid sequences of the retinol-binding proteins of man and dog. *Biochim Biophys Acta.* 1975; 412: 326–334.

- ✓ Quiles JL, Ochoa JJ, Carmen Ramirez-Tortosa M, et al. Coenzyme Q concentration and total antioxidant capacity of human milk at different stages of lactation in mothers of preterm and full-term infants. *Free Radical Research*. 2006; 40: 199–206.

- ✓ Rähä NCR. New Developments Related to Nutritional Aspects of Protein in Human Milk. En: Hason LA (ed). *Biology of Human Milk*. Nestlé Nutrition Workshop series. Vol. 15. New York: Vevey /Raven Press,1988. P. 1–5.

- ✓ Randolph RK, Winkler KE, Ross AC: Fatty acyl CoA-dependent and -independent retinol esterification by rat liver and lactating mammary gland microsomes. *Arch Biochem Biophys*. 1991; 288: 500–508.

- ✓ Rask L, Anundi H, Bohme H, Eriksson U, Ronne H, Sege K, Petersen PA: Structural and functional studies of vitamin A-binding proteins. *Ann N Y Acad Sci*. 1981; 359: 79–90.

- ✓ Rask L, Petersen PA: In vitro uptake of vitamin A from the retinol-binding plasma protein to mucosal epithelial cells from the monkey`s small intestine. *J Biol Chem*. 1976; 251: 6360–6366.

- ✓ Ratnayake WMN, Chen ZY. Trans, n-3, and n-6 fatty acids in Canadian human milk. *Lipids* 1996;31:S279–82.

- ✓ Rebuffé-Scrive M, Enk L, Crona N, et al. Fat cell metabolism in different regions in women. Effect of menstrual cycle, pregnancy and lactation. *J Clin Invest* 1985;75:1973–6.

- ✓ Recommended Dietary Allowances. National Research Council. National Academy Press, Washington 2002.

- ✓ Redondo C. consecuencias conductuales, bioquímicas y neuroquímicas de la deficiencia en ácidos grasos poliinsaturados durante el periodo de la lactancia en ratas Wistars. Tesis doctoral. Universidad del Pais Vasco. Lejona;2002.

-
- ✓ Rey J, Schmitz J and Amedee-Manesme D. Fat absorption in low birth weight infants. *Acta Paediatr.* 1982;suppl.296:81–84.

 - ✓ Ritchie JH, Fish MB, McMaster V and Grossman M: Edema and hemolytic anemia in premature infants: a vitamin deficiency syndrome. *N. Eng. J. Med.* 1968; 279: 1185–1190.

 - ✓ Roberts RB and Knight ME: Pharmacology of vitamin E in the newborn. *Clin Perinatol.* 1987; 14: 843–855.

 - ✓ Rocquelin G, Tapsoba S, Dop MC, Mbemba F, Traissac P, Martin-Prevel Y. Lipid content and essential fatty acid (EFA) composition of mature Congolese breast milk are influenced by mothers' nutritional status: impact on infants' EFA supply. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52(3):164–71.

 - ✓ Rodgers B. Feeding in infancy and later ability and attainment: a longitudinal study. *Dev Med Child Neurol* 1978;20:421–426.

 - ✓ Rogers MP, Zhao X, Lipoprotein lipase mRNA levels in adipose tissue in lactation. *Biochem Soc Trans* 1996;24:169S.

 - ✓ Romero D, Villalba MP, Camacho C y Gonzalez F: Estrés oxidativo y su relación con la patología pediátrica. *Ann Esp Pediatr.* 1992; 36: 85–97.

 - ✓ Rosembaum AI, Phelps DI, Isenberg Sj, Leake Rd, Dorey F: Retinal haemorrhage in retinopathy of prematurity associated with tocopherol treatment. *Ophthalmology.* 1985; 92:1012–1024.

 - ✓ Rosenthal D, Lanciollitti F, Darwiche N, Sinha R, De Luca LM. Regulation of epithelial differentiation by retinoids. In: Blomhoff R (ed): *Vitamin A in Health and Disease.* New York: Marcel Dekker Inc; 1994. pp. 425–450.

 - ✓ Ross AC and Tarnus ME: Vitamin A as a hormone: Recent advances in understanding the actions of retinol, retinoid acid, and beta carotene. *J Am Diet Assoc.* 1993; 1285–1290.

- ✓ Ross AC. Vitamin A status: relationship to immunity and the antibody response. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1992 Jul;200(3):303–20.

- ✓ Ross AC. Vitamin A status: relationship to immunity and the antibody response. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992;200:303–20.

- ✓ Ross S. A., McCaffey P.J., Dräger U.C., De Luca L.M. Retinoids in embryonal development. *Physiol. Rev.* 2000;80:1021–1054.

- ✓ Ruan C, Liu X, Man H, Ma X, Lu G, Duan G, DeFrancesco CA, Connor WE. Milk composition in women from five different regions of China: the great diversity of milk fatty acids. *J Nutr*. 1995;125(12):2993–8.

- ✓ Rudy SJ. From conception to birth: the development of skin and nursing care implications. *Dermatol Nurs*. 1991;3(6):381–91.

- ✓ Saari JC, Bredberg DL: Lecithin:retinol acyltransferase in retinal pigment epithelial microsomes. *J Biol Chem*. 1989; 264: 8636–8640.

- ✓ Saari JC. Retinoids in photosensitive systems. In: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS, eds. *The retinoids: biology, chemistry and medicine*. New York: Raven Press, 1994:351–85.

- ✓ Saito M, Nakatsugawa K, Oh-Hashi A, Nishimuta, Kodama N: Comparison of vitamin E levels in human plasma, red blood cells, and platelets following varying intakes of vitamin E. *J Clin Biochem Nutr* 1992; 12: 59–68.

- ✓ Sakurai T, Furukawa M, Asoh M, Kanno T, Kojima T, Yonekubo A. Fat-soluble and water-soluble vitamin contents of breast milk from Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol* 2005; 51(4):239–47.

- ✓ Sala-Vila A, Castellote AI, Rodríguez-Palmero M, Campoy C, López-Sabater MC: Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): Changes during lactation. *Nutrition* 2005; 21:467–473.

-
- ✓ Salem N, Shingu, T, Kim HY et al. Specialization in membrane structure and metabolism with respect to polyunsaturated lipids. *Prog Clin Biol Res.* 1988;282:319–333.

 - ✓ Salem N Jr, Wegher B, Mena P, Uauy R. Arachidonic and docosahexaenoic acids are biosynthesized from their 18-carbon precursors in human infants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 9;93(1):49–54.

 - ✓ Sanders TAB, Ellis FR, Dickerson JWT. Studies of vegans: the fatty acid composition of plasma choline phosphoglycerides, erythrocytes, adipose tissue, and breast milk and some indicators of susceptibility to ischemic heart disease in vegans and omnivore controls. *Am J Clin Nutr* 1978;31:805–13.

 - ✓ Sanders TA. Essential fatty acid requirements of vegetarians in pregnancy, lactation, and infancy. *Am J Clin Nutr.* 1999;70(3 Suppl):555S–559S.

 - ✓ Sastry PS. Lipids of the nervous tissue: composition and metabolism. *Prog Lipid res.* 1985;24:69–176.

 - ✓ Sauerwald TU, Hachey DL, Jensen CL, Chen H, Anderson RE, Heird WC. Effect of dietary alpha-linolenic acid intake on incorporation of docosahexaenoic and arachidonic acids into plasma phospholipids of term infants. *Lipids.* 1996 Mar;31 Suppl:S131–5.

 - ✓ Sauerwald TU, Demmelmair H, Koletzko B Polyunsaturated fatty acid supply with human milk. *Lipids.* 2001;36(9):991–6.

 - ✓ Scopesi F, Ciangherotti S, et al. Maternal dietary PUFAs intake and human milk content relationships during the first month of lactation. *Clinical Nutrition* 2001 20(5):393–397.

 - ✓ Schneider R, Eberhart W, Hesecker H, Kubler W: Vitamin intake and vitamin status in Germany. *Bibl Nutr Dieta* 1995; 52: 116–127.

- ✓ Schofield Cr, Davison VI, Dutton HJ, analysis for geometrical and positional isomers of fatty acids in partially hydrogenated fats. *J Am Oil Chem Soc* 1967;44:648–51.
- ✓ Schofield Cr. Analysis and Physical properties of isomeric fatty acids. In: Emken EA, Dutton HJ, editors. *Geometrical and positional fatty acid isomers*. Champaign, IL: American Oil Chemist Society;1979. p. 41.
- ✓ Schrijver J: Biochemical markers for micronutrient status and their interpretation. In: *Modern Lifestyles, Lower Energy Intake and Micronutrient Status* (Pietrzik, k, ed). 1991. Marcel Dekker. pp: 119–133.
- ✓ Schwade JA, Dropik P. A little language hurst a lot: productive vocabulary and non verbal recall in 16 to 20 months old. *Infant Behav Dev* 1996;19:732.
- ✓ Schwarz KB and Olson RE : Requeriments and absorptin of fat soluble vitamins during infancy. In : Lebenthal E (Ed) : *Texbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy*. New York. Ed. Raven Press. 1983 ; 563–584.
- ✓ Scopesi F, Ciangherotti S, Lantieri P.B., Risso D., Bertini I., Campone F., Pedrotti A., Bonacci W., Serra G.. Maternal dietary PUFAs intake and human milk content relationships during the first month of lactation. *Clinical nutrition* (2001) 20(5): 393–397.
- ✓ Semba RD, Delange F. Iodine in human milk: perspectives for infant health. *Nutr Rev.* 2001 ;59(8 Pt 1):269–78.
- ✓ Senoo H, Stang E, Nilsson A, Kindberg Gm, Berg T, et al: Internalization of retinol-binding protein in parenchymal and stellate cells of the rat liver. *J Lipid Res.* 1990; 31: 1229–1239.
- ✓ Serra-Majem L, Ferro-Luzzi A, Bellizi M and Salleras L. Nutricion policies in Mediterranean Europe. 1997;55:S42–S57.

-
- ✓ Sevanian A, Davies KJA and Hochstein P: Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54: 1129–1134.

 - ✓ Shingleton JL, Skinner Mk, Ong DE: Characteristics of retinol accumulation from serum retinol-binding protein by cultured sertoli cells. *Biochemistry.* 1989a; 28: 9641–9647.

 - ✓ Shingleton JL, Skinner MK, Ong DE: Retinol esterification in Sertoli cells by lecithin-retinol acyltransferase. *Biochemistry.* 1989b; 28: 9647–9653.

 - ✓ Sierra C, Pastor MC, Ramon M: Liquid chromatography determination of α -tocopherol in erythrocytes. *Clin Chim Acta* 1992; 208: 119–126.

 - ✓ Sies SH, Murphy ME, Di Mascio P and Stahl W: Tocopherols, carotenoids and the glutathione system. En: Ong ASH y Parcker L, eds. *Lipid-Soluble Antioxidants.* Birkhaeuser: Basel. 1992; 160–165.

 - ✓ Silber R, Winter R, Kayden HJ: Tocopherol transport in the rat erythrocyte. *J Clin Invest.* 1969; 48: 2089–2095.

 - ✓ Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development : *Am J Nutr* 1991 ;54(3) :438–63.

 - ✓ Simopoulos AP, Leaf A, Salem N Jr. Workshop on the Essentiality of and Recommended Dietary Intakes for Omega-6 and Omega-3 Fatty Acids. *J Am Coll Nutr.* 1999;18(5):487–9.

 - ✓ Sinha S, Davies J, Torner N, Bogle S and Chiswick M: Vitamin E supplementation reduces frequency of periventricular haemorrhage in very preterm babies. *Lancet.* 1987; 28: 466–470.

 - ✓ Smit EN, Martini IA, Mulder H, Boersma ER, Muskiet FE. Estimated biological variation of the mature human milk fatty acid composition. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002;66: 549.

- ✓ Smith Fr, Goodman DS: The effects of diseases of the liver, thyroid, and kidneys on the transport of vitamin A in human plasma. *J Clin Invest.* 1971; 50: 2426–2436.

- ✓ Smith JE, Borek C, Goodman DS: Retinol-binding protein metabolism in liver cells in vivo and in vitro. *Ann N Y Acad Sci.* 1981; 359: 171–180.

- ✓ Soprano DR, Pickett CB, Smith JE, Goodman DS: Biosynthesis of plasma retinol-binding protein in liver as a larger molecular weight precursor. *J Biol Chem.* 1981; 256: 8256–8258.

- ✓ Soprano DR, Smith JE, Goodman DS: Effect of retinol status on retinol-binding protein biosynthesis rate and translatable messenger RNA level in rat liver. *J Biol Chem.* 1982; 257: 7693–7697.

- ✓ Soprano DR, Soprano KJ, Goodman DS: Retinol-binding protein messenger RNA levels in the liver and in extrahepatic tissues of the rat. *J Lipid Res.* 1986; 27: 166–171.

- ✓ Speer Me, Blifeld C, Rudolph Aj, Chadda P, Holbein Meb and Hittner Hm: Intraventricular hemorrhage and vitamin E in the low birth-weight infant: evidence for efficacy of early intramuscular vitamin E administration. *Pediatrics.* 1984; 74:1107–1112.

- ✓ Sporn MB, Roberts AB and Goodman DS: *The Retinoids*, vol 1 and 2. Academic Press: Orlando, Florida. 1984.

- ✓ Stacewicz M, Bowen PE, Kikendall JW, Burgess M: Simultaneous determination of serum retinol and various carotenoids: their distribution in middle-aged men and women. *J Micronut Anal* 1987; 3: 27–45.

- ✓ Subramanian CS and Mead: A relationship between essential fatty acid and vitamin E deficiency. *Lipids.* 1986; 21: 603–607.

-
- ✓ Sundelin J, Anundi H, Tragardh L, Eriksson U, Lind P, Ronne H, Peterson PA, Rask L: the primary structure of rat liver cellular retinol-binding protein. *J Biol Chem.* 1985; 260: 6488–6493.
 - ✓ Takahashi Y, Uruno K and Kimur AS: Vitamin E binding proteins in human serum. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1979, 23: 201–209.
 - ✓ Tagle MA. [World Hunger Program of the United Nations University] *Arch Latinoam Nutr.* 1979;29(3):409–17. Spanish
 - ✓ Tamas M, Kovacs A, Lohner S, Funke S, Burus I, Decsi T. Fatty acid composition of human milk in mothers of preterm and full-term infants in the first three weeks of lactation. *Orv Hetil.* 2006 Aug 6;147(31):1459–63
 - ✓ Tamari Y, Kim ES. Longitudinal study of the dietary selenium intake of exclusively breast-fed infants during early lactation in Korea and Japan. *J Trace Elem Med Biol.* 1999;13(3):129–33.
 - ✓ Taylor KB, Anthony LE. Nutritional aspects of pregnancy, lactation, infancy and childhood, adolescence, middle age and old age. In: Ferrera A, Boynton SD, eds. *Clinical Nutrition.* New York: McGraw-Hill Book Company, 1983:99–150.
 - ✓ Tee Es, Lim Cl, Chong YJ: Carotenoid profile and retinol content in human serum—simultaneous determination by high-pressure liquid chromatography (HPLC). *Int J Food Sci Nutr* 1994; 45: 147–157.
 - ✓ Tigas S, Sunehag A, Haymond MW. Metabolic adaptation to feeding and fasting during lactation in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(1):302–7.
 - ✓ Thompson BJ, Smith S. Biosynthesis of fatty acids by lactating human breast epithelial cells: an evaluation of the contribution to the overall composition of human milk fat. *Pediatr Res* 1985;19(1):139–43.

- ✓ Thurnham DI: Do higher vitamina A requirements in men explain the difference between the sexes in plasma provitamin A carotenoids and retinol? (Abstract). Proc Nutr Soc 1988; 47: 181.

- ✓ Serrano Ríos M, Fraga JM, Bueno M, Cabezas Cerrato J, Miralles RC, Tojo Sierra R. ANS. Alimentación, nutrición y salud, ISSN 1136-4815, Vol. 10, N°. 1, 2003, pags. 19-28

- ✓ Torma H, Vahlquist A: Vitamin A esterification in human epidermis: A relation to keratinocyte differentiation. J Invest Dermatol. 1990; 94: 132-138.

- ✓ Traber Mg, Ingold Ku, Burton GW and Kayden HJ: Absorption and transport of deuterium-substituted 2R,4'R,8'R-(α -tocopherol) in human lipoproteins. Lipids. 1988; 23: 791-797.

- ✓ Tragardh L, Anundi H, Rask L, Sefe K, Petersen PA: On the stoichiometry of the interaction between prealbumin and retinol-binding protein. J Biol Chem. 1980; 255: 9243-9248.

- ✓ Uauy RD, Birch DG, Birch EE, et al. effect of dietary omega3 fatty acids on retinal function of very-low-birth-weight neonates. Pediatr res 1990;28:485-492.

- ✓ Uauy R, Mena P, Rojas C. Essential fatty acids in early life: structural and functional role. Proc Nutr Soc. 2000;59(1):3-15.

- ✓ Udipi SA, Ghugre P, Antony U. Nutrition in pregnancy and lactation. J Indian Med Assoc. 2000 Sep;98(9):548-57.

- ✓ Underwood Ba, Loerch Jd, Lewis KC: Effects of dietary vitamin A deficiency, retinoic acid and protein quantity and quality on serially obtained plasma and liver levels of vitamin A in rats. 1979; 109: 796-806.

-
- ✓ Underwood BA: Vitamin a in animal and human nutrition, en: The retinoid, Srrpron, MB; Robert AB; Goodman DS. Eds. Vol 1, capítulo 6, Academic Press, Nueva York. 1984; 281–392.

 - ✓ Urano S, Kitahara M, Yuko K, Hasegawa Y and Mitsuyoshi M: Membrane stabilizing effect of vitamin E: existence of a hydrogen bond between alpha-tocopherol and phospholipids in bilayer liposomes. J Nutr Sci Vitaminol. 1990; 36: 513–519.

 - ✓ Vahlquist A: Metabolism of the vitamin A-transporting protein complex: turnover of retinol-binding protein, prealbumin and vitamin A in a primate (Macaca Irus). Scand J Clin Lab Invest. 1972; 30: 349–360.

 - ✓ Valverde MF, Codoceo R, Jara P, Ancciones V, Diaz MC, Bescansa E y Vazquez C: Deficiencia de vitamina E en la colestasis crónica de la infancional Manifestaciones neurológicas. Premios de Nutrición Infantil. 1986. Barcelona. Ed. Nestlé AEPA. 1987; pp: 9–56.

 - ✓ Van Beusekom C, Martini IA, Rutgers HM, Boersma ER, Muskiet FA. A carbohydrate-rich diet not only leads to incorporation of medium-chain fatty acids (6:0–14:0) in milk triglycerides but also in each milk-phospholipid subclass. Am J Clin Nutr. 1990;52(2):326–34.

 - ✓ Van Der Westhuyzen J, Chetty N, Atkinson PM. Fatty acid composition of human milk from south African black mothers consuming a traditional maize diet. Eur J Clin Nutr 1988;42(3):213–20.

 - ✓ Van Jaarsveld Pp, Edelhoach H, Goodman Ds Robbins J: The interaction of human plasma retinol-binding protein and prealbumin. J Biol Chem. 1973; 248: 4698–4705.

 - ✓ Verdon CP and Blumberg JB: Influence of dietary vitamin E on the intermembrane transfer of alpha-tocopherol as mediated by an alpha-tocopherol-binding protein. Anal Biochem. 1988; 169: 109–120.

 - ✓ Von Kries R, Shearer M, McCarthy PT, Haug M, Harzer G, Gobel U. Vitamin K1 content of maternal milk: influence of the stage of lactation,

lipid composition, and vitamin K1 supplements given to the mother. *Pediatr Res.* 1987;22(5):513-7.

✓ Vuilleumier Jp, Keller He, Gysel D, Hunziker J: Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. *Int J Vit Nutr Res* 1983; 53: 265-272.

✓ Vuori L, de Navarro L, Christiansen N, Mora JO, Herrera MG. Food supplementation of pregnant women at risk of malnutrition and their newborns' responsiveness to stimulation. *Dev Med Child Neurol.* 1980 ;22(1):61-71.

✓ Wainwright PE, Huang YS, Bulman-Fleming, et al. The role of ω -3 essential fatty acids in brain and behavioural development: a crossfostering study in the mouse. *Lipids* 1991;26:37-45.

✓ Wang XD, Krinsky NI, Benotti PN and Russell RM: Biosynthesis of 9-cis-retinoic acid from 9-cis- β -carotene. *Arch Biochem Biophys.* 1994; 313: 150-155.

✓ Wang XD, Tang GW, Fox Xx, Krinsky NI and Russell RM: Enzymatic conversion of β -carotene into β -apo carotenals and retinoids by human, monkey, feret and rat tissues. *Arch Biochem Biophys.* 1991; 285: 8-16.

✓ Wauben IP, Xing HC, Wainwright PE. Neonatal dietary zinc deficiency in artificially reared rat pups retards behavioral development and interacts with essential fatty acid deficiency to alter liver and brain fatty acid composition. *J Nutr.* 1999 129(10):1773-81.

✓ Weisinger HS, Vingrys AJ, Sinclair AJ. The effect of docosahexaenoic acid on the electrorretinogram of the guinea pigs. *Lipids* 1996;31:65-70.

✓ West KP, Howard GR, Sommer A. Vitamin A and infection: public health implication. *Annu Rev Nutr* 1989;9:63-86.

-
- ✓ Whitney EN, Hamilton EMN, Boyle MA: Understanding nutrition. West publ. Co, St. Paul. 1987.

 - ✓ WHO: Control of vitamin A deficiency and xerophthalmia. Report of a joint WHO/UNICEF/USAID/Hellen Keller International/IVAGG Meeting. WHO Tech Report Series 672. Geneva: WHO. 1982.

 - ✓ Willians ML, Shott RJ, O´Neal PL and Osky FA: Role of dietary iron and fat on vitamin E deficiency anemia of infancy. N. Eng. J. Med. 1975; 292:887–890.

 - ✓ Windernbauer F: Versuche mit weizenkeimöl (vitamin E) bei der Aufzucht von Frühgeburten. Z Kindeheilkd 1938; 60:216–221.

 - ✓ Wolff G: The intracellular vitamin A-binding proteins: an overview of their function. Nutr Res. 1991; 49: 1–12.

 - ✓ Woods JR, Plessinger MA, Miller RK, Vitamins C and E: Missing links in preventing preterm premature rupture of membranes?. Am J Obstet Gynecol. 2001;185:5–10.

 - ✓ Xiang M, Harbige LS, Zetterstrom R. Long-chain polyunsaturated fatty acids in Chinese and Swedish mothers: diet, breast milk and infant growth. Acta Paediatr. 2005 94(11):1543–9.

 - ✓ Yamada M, Blaner WS, Soprano DR, Dixon JL, Kjeldbye HM, Goodman DS: Biochemical characteristic of isolated rat liver stellate cells. Hepatology. 1987; 7: 1224–1229.

 - ✓ Ye L, Eitemiller R: Handbook of Food Analysis. Second Edition, revised and expanded. Physical Characterization and Nutrient Analysis. Edited by Nollet ML. pp. 431–485.

 - ✓ Yuhas R, Pramuk K, Lien EL. Human milk fatty acid composition from nine countries varies most in DHA. Lipids 2006;41(9):851–8.

- ✓ Zachara BA, Pilecki A. Daily selenium intake by breast-fed infants and the selenium concentration in the milk of lactating women in western Poland. *Med Sci Monit.* 2001 Sep-Oct;7(5):1002-4.

- ✓ Zachman R. D., Grummer M. A. Retinoids and lung development. Mendelson C. R. eds. *Contemporary Endocrinology; Endocrinology of the Lung: Development and Surfactant Synthesis* 2000 Humana Press Totowa, NJ. ch. 9.

- ✓ Zile M. H. Vitamin A and embryonic development: an overview. *J. Nutr.* 1988;128:455S-458S.

- ✓ Zile M.H. Avian embryo as model for retinoid function in early development. Nau H. Blaner W.S. eds. *Handbook of Experimental Pharmacology, Retinoids, The Biochemical and Molecular Basis of vitamin A and Retinoid action* 1999;139:443-464 Springer-Verlag Heidelberg, Germany.