UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
Y
BIOLOGÍA MOLECULAR

CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA PLASMÁTICA Y ERITROCITARIA EN RECIÉN NACIDOS DE BAJO PESO DEBIDOS A LA SUPLEMENTACIÓN DE LA DIETA CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA.

TESIS DOCTORAL

MANUEL EDUARDO GALLARDO ORTEGA

GRANADA
1996

CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA PLASMÁTICA Y ERITROCITARIA EN RECIÉN NACIDOS DE BAJO PESO DEBIDOS A LA SUPLEMENTACIÓN DE LA DIETA CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA

Memoria que presenta el Ldo. D. Manuel Eduardo Gallardo Ortega para aspirar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas.

Prof.Dr. D. Ángel Gil Hernández
Director de la Tesis

Dra. Dª. María Ramírez González
Directora de la Tesis

Ldo. D. Manuel Eduardo Gallardo Ortega

Prof. Dr. D. Ángel Gil Hernández, Catedrático del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Granada y Director del Departamento de I+D de ABBOTT LABORATORIES S.A.

CERTIFICA: Que los trabajos que se exponen en la memoria de Tesis Doctoral: *Cambios en la composición lipídica plasmática y eritrocitaria en recién nacidos de bajo peso debidos a la suplementación de la dieta con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga* han sido realizados en el Departamento de Bioquímica Biología y Molecular de la Universidad de Granada y en el Departamento de I+D de ABBOTT LABORATORIES S.A., correspondiendo fielmente a los resultados obtenidos. La presente Memoria ha sido revisada por mí, encontrándola conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones legalmente vigentes, a los efectos oportunos.

Este Trabajo ha sido financiado por una beca del M.E.C. tipo OPIS, Universidad-Empresa modalidad d y por la ABBOTT LABORATORIES S.A.

AGRADECIMIENTOS

Una vez concluido este Trabajo de Investigación quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que me han ayudado de alguna forma a la realización del mismo.

En primer lugar, mi mayor agradecimiento para el Dr. D. Angel Gil Hernández, Director de esta Memoria, al brindarme la oportunidad de realizar esta Tesis en el seno de su grupo de Investigación a la vez que depositó en mi su confianza.

También quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. Dª. María Ramírez González, Directora de esta Memoria, porque gracias a su enorme capacidad de trabajo, a su talante investigador, a sus innumerables consejos y a su especial dedicación, esta Tesis ha visto su fin. María, no tengo palabaras para agradecerte lo mucho que me has ayudado.

Quiero dar las gracias al Dr. Clovis Weissheimer, mi médico de Brasil, por haberme suministrado las muestras siempre tan a punto y en perfecto estado.

A todos mis compañeros de fatigas de I+D de UNIASA-PULEVA, ahora ABBOTT LABORATORIES, por su ayuda desinteresada y por su apoyo en el día a día, haciendo que este trabajo fuera más llevadero.

A José María porque me enseñó algunas técnicas que he empleado en esta Memoria.

A Mª Luisa y Laura que me echaron una mano procesando aquellas muestras.

A Puri porque me ha prestado una ayuda valiosísima a la hora de imprimir esta Memoria.

A José Luís por haber hecho que estos años de trabajo tan duro no lo hayan sido tanto, gracias a su compañía y gran amistad.

Tampoco quiero olvidarme de Julio, Jesús, Olga, Juanma, Luís, Ricardo, Antonio, Julio, Juan Miguel, Carmen, Cristina y Mª Carmen por la ayuda desinteresada que me han ofrecido y el ánimo infundido en tantas horas de laboratorio y almuerzos que hemos compartido.

A mis compañeros del Laboratorio de Fisicoquímica por la ayuda que he recibido de ellos, así como a los de la Planta Piloto por haberme suministrado las dietas.

A Mercedes por haber sabido soportarme y estar junto a mí durante todo este tiempo, sobre todo en los más difíciles, en los que me prestó su apoyo moral y ayuda siempre y cuando la necesité y porque ella ha sido mi única motivación para continuar.

A Manolo porque sus consejos siempre fueron acertados.

A mis padres, tía, abuela y hermanos porque ellos fueron quienes hicieron el esfuerzo para que este día llegara.

Mi agradecimiento al Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular porque me permitió la utilización de sus instalaciones siempre que las precisé.

A todos ellos, sinceramente, GRACIAS

Esta Tesis Doctoral la dedico

A mis padres
A mi familia
A Mercedes
A Manolo

INDICE

ABREVIATURAS

OBJETIVO 1

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS 5

ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN NIÑOS PREMATUROS 7

Ácidos linoleico y α-linolénico 7

Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga 9

Transporte placentario de ácidos grasos al feto 11

Captación de ácidos grasos poliinsaturados en el periodo perinatal 13

Estado de ácidos grasos esenciales maternales y fetales durante la gestación. 15

LECHE HUMANA 17

Composición de la leche humana 17

Modificación de la composición en ácidos grasos de la leche materna por la dieta 21

EFECTO DE LA DIETA SOBRE EL ESTADO DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA 24

Comparación entre leche humana y fórmulas para lactantes 24

Relación ideal de los ácidos linoleico y α-linolénico en la dieta 26

Efecto de la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a las fórmulas adaptadas 28

a) *Estudios bioquímicos* 28

b) *Estudios fisiológicos* 33

Recomendaciones actuales de ácidos grasos para las fórmulas infantiles ... 35

Fuentes de ácidos grasos poliinsaturados para la suplementación de las fórmulas adaptadas 37

MATERIAL Y MÉTODOS 41

SUJETOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL 43

ALIMENTACIÓN 45
PRODUCTOS 50
APARATOS 51
MÉTODOS ANALÍTICOS 52
Toma de muestras 52
Separación del plasma 53
Extracción lipídica de los eritrocitos 53
Extracción de los lípidos plasmáticos 54
Determinación de la capacidad antioxidante del plasma 54
Análisis de las fracciones lipídicas plasmáticas y eritrocitarias por cromatografía en capa fina de alta resolución 55
a) *Activación de las placas* 55
b) *Aplicación de la muestra* 56
c) *Desarrollo cromatográfico* 56
d) *Revelado de las placas* 56
e) *Cuantificación de los lípidos mediante fotodensitometría* 57
Cromatografía en capa fina preparativa de lípidos plasmáticos y eritrocitarios 58
a) *Preparación de las placas* 58
b) *Aplicación de la muestra* 58
c) *Desarrollo cromatográfico* 59
d) *Revelado de las placas* 59
Transesterificación de los ácidos grasos 60
Cromatografía de gas-líquido 60
Determinación de colesterol y fósforo eritrocitarios 61
a) *Determinación de colesterol libre* 62
b) *Determinación de fósforo lipídico* 62
c) *Relación molar de colesterol-fósforo* 63
TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS 63

RESULTADOS 65
EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS 67

COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE HUMANA 72
CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA PLASMÁTICA 74
CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL PLASMA 78
Ácidos grasos totales plasmáticos 78
Fracciones plasmáticas 95
a) *Fosfolípidos* 95
b) *Ésteres de colesterol* 103
c) *Triglicéridcs* 111
CAMBIOS EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PLASMÁTICA . 122
CAMBIOS EN LA RELACIÓN MOLAR COLESTEROL/FOSFORO ERITROCITARIA 123
CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN RELATIVA DE FOSFOLÍPIDOS ERITROCITARIOS 123
CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ERITROCITARIOS 125
Fosfolípidos totales 125
Fracciones eritrocitarias 135
a) *Fosfatidilcolina* 135
b) *Fosfatidiletanolamina* 143
c) *Fosfatidilserina y fosfatidilinositol* 151
d) *Esfingomielinas* 158

DISCUSIÓN 167
Introducción 169
Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la dieta y el crecimiento 171
Ácidos grasos saturados, monoinsaturados, linoleico y α-linolénico en niños alimentados con leche humana 173
Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta sobre la composición en ácidos grasos plasmática 174
Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la dieta sobre la composición lipídica del plasma 179

Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la dieta sobre la capacidad antioxidante total plasmática 181
Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta sobre la composición lipídica eritrocitaria 182

CONCLUSIONES 185

BIBLIOGRAFÍA 189

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

AG	Ácidos grasos.
AGE	Ácidos grasos esenciales.
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados.
AGPI-CL	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena muy larga.
AA	Ácido araquidónico.
BHT	Butilhidroxitolueno.
CHOD-PAP	Colesteroloxidasa-peroxidasa.
DHA	Ácido docosahexaenoico.
DMA	Dimetilacetal.
DPA/DHA	Relación entre los ácidos grasos 22:5n-3 y 22:6n-3.
EPA	Ácido eicosapentaenoico.
FA	Fórmula adaptada.
FAP	Fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.
HDL	Lipoproteína de alta densidad.
HPTLC	Cromatografía en capa fina de alta resolución.
LA/AA	Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico.
LCAT	Lecitín colesterol aciltransferasa.
LDL	Lipoproteína de baja densidad.
LH	Leche humana.
MONO	Suma de los ácidos grasos monoinsaturados.
N.D.	No detectado.
n-3>18C	Suma de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 mayores de 18 carbonos.
n-6>18C	Suma de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 mayores de 18 carbonos.
n-6/n-3>	Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y n-3 mayores de 18 carbonos.
PC	Fosfatidilcolina.
PE	Fosfatidiletanolamina.
PI	Fosfatidilinositol.

PL	Fosfolípidos.
PS	Fosfatidilserina.
SAT	Suma de los ácidos grasos saturados.
SD	Desviación estándar.
SDMA	Suma de los dimetilacetales.
SEM	Error estándar de la media.
SM	Esfingomielinas.
SUMA	Suma de ácidos grasos totales del plasma.
TLC	Cromatografía en capa fina.
TOTAL	Suma de los lípidos plasmáticos identificados.
UNID	Indice de insaturación.
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad.

OBJETIVO

Todos los organismos internacionales de nutrición y muy especialmente la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan la leche de mujer como el alimento idóneo para los lactantes humanos dadas sus especiales características de composición que no sólo cubren los requerimientos nutricionales del recién nacido, sino que aportan otros componentes favorecedores del crecimiento y factores de protección inmunológica.

Las fórmulas lácteas son una buena opción para aquellos niños que no pueden ser alimentados con la leche de sus madres. Entre los distintos componentes de las fórmulas para lactantes, los lípidos han recibido menos atención que las proteínas, los carbohidratos o incluso que los minerales debido a su papel fundamentalmente energético. Sin embargo, el descubrimiento de la esencialidad o semiesencialidad de determinados ácidos grasos y las relaciones entre ellos ha centrado la atención sobre la calidad de la grasa de la dieta del recién nacido. Entre los diferentes aspectos relacionados con el aporte óptimo de lípidos en las fórmulas, la ingesta y el metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL) han recibido un trato especial en los últimos años.

Durante el último trimestre de gestación se produce una acumulación importante de AGPI-CL en los tejidos neurales. Este proceso se ve interrumpido o perjudicado en los niños prematuros o con retraso del crecimiento intrauterino debido a que tanto los ácidos grasos esenciales (AGE) como una parte significativa de los AGPI-CL de la dieta se transfieren al feto a través de la placenta.

Los AGPI-CL presentan importantes funciones fisiológicas, estando implicados, sobre todo el ácido docosahexaenoico, en el desarrollo del sistema nervioso central y de la función visual. El aporte de AGPI-CL en la dieta durante el desarrollo postnatal temprano parece ser beneficioso para el recién nacido muy especialmente para el recién nacido de bajo peso.

Un 15% de los recién nacidos de todo el mundo son de bajo peso y aunque la mayoría de ellos se encuentran en países subdesarrollados el problema afecta también a los países desarrollados en los que su número se está incrementado debido al consumo de drogas, tabaco y otros tóxicos. El número de recién nacidos de este tipo que sobrevive es cada vez mayor por

lo que una buena nutrición condiciona su calidad de vida.

La leche humana contiene AGPI-CL que están ausentes en la mayoría de las fórmulas para lactantes. Se han encontrado diferencias tanto en la composición en ácidos grasos tisulares como funcionales entre los recién nacidos prematuros alimentados con leche humana o con fórmulas. Por ello, se han incrementado los estudios que tratan de analizar los efectos de la suplementación de AGPI-CL a la dieta sobre la composición y funcionalidad tisular en el periodo postnatal temprano.

Existen dos tipos de enfoques en los estudios que contemplan la adición de AGPI-CL para los lactantes:

- Estudios bioquímicos dedicados a la evaluación de la suplementación de AGPI-CL a la dieta sobre la composición en ácidos grasos de plasma y tejidos.

- Estudios fisiológicos dedicados a la evaluación de la suplementación a la dieta sobre el desarrollo de determinadas funciones neuronales a corto y a largo plazo.

Nuestro estudio se encuadra dentro del primer enfoque por lo que el objeto del trabajo ha sido:

* Evaluar si la adición a una fórmula para lactantes de AGPI-CL de las series n-6 y n-3 es capaz de mejorar el estatus de AGPI-CL en plasma y eritrocitos de recién nacidos de bajo peso sin perjudicar su crecimiento así como su capacidad de defensa antioxidante.

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN NIÑOS PREMATUROS

Ácidos linoleico y α-linolénico

En un principio, el ácido linoleico (18:2n-6) fue considerado como el único ácido graso esencial (AGE) que se debía suministrar a las dietas infantiles para prevenir anormalidades funcionales. Los primeros casos descritos de deficiencia en ácido linoleico fueron publicados por Von Groer en 1919. Este autor describió a dos niños de bajo peso de 1900 g y 2400 g que fueron alimentados con una fórmula casi libre de grasa, los cuales después de 3 y 6 meses respectivamente, presentaron una disminución del crecimiento, infecciones severas, vómitos repetidos y anorexia. Los síntomas se normalizaron en el transcurso de un mes cuando se administró una dieta con grasa. Algunos años más tarde, Burr y Burr (1929) observaron síntomas similares, así como una dermatitis escamosa, en ratas recién nacidas alimentadas con una dieta sin grasa en las que se identificó posteriormente la deficiencia de ácido linoleico como la causa de esta alteración (Burr y Burr, 1930).

El ácido α-linolénico (18:3n-3) también se utilizó para curar el síndrome de deficiencia en grasa, aunque su eficacia terapéutica en los cambios de la piel de los animales sólo fue un décimo de la del ácido linoleico (Thomansson, 1953). La existencia de deficiencia de ácido linoleico en niños fue confirmada en los años 50 por Hansen *et al.* (1963); sus principales síntomas clínicos también fueron bajo crecimiento, dermatitis escamosa y seca con una alta incidencia y severidad de infecciones.

De acuerdo con estas y otras observaciones, el ácido linoleico se convirtió en el ácido graso esencial por excelencia para los niños prematuros. Los Comités de Nutrición Pediátrica de Canadá y Estados Unidos recomendaron un suministro del ácido linoleico para los niños de bajo peso de al menos un 3% de la ingesta energética, pero no recomendaron nada en relación al ácido α-linolénico (CPS, 1981; AAP, 1985). Sin embargo, Holman *et al.* (1982) describieron alteraciones visuales y neurológicas en una niña de seis años que había sido alimentada durante 5 meses mediante nutrición parenteral, con una fuente lipídica rica en ácido linoleico y muy pobre en ácido α-linolénico. Los síntomas desaparecieron rápidamente cuando se incluyó en la fórmula

una cantidad adecuada de α-linolénico. Bjerve *et al.* (1987; 1989) también han descrito casos de deficiencia de este ácido graso en humanos, aunque estos datos han sido puestos en tela de juicio (Koletzko, 1987; Koletzko y Cunnane, 1988), presentándose normalmente deficiencias combinadas de ambos ácidos grasos (Levy *et al.*, 1990) que hacen que sea difícil distinguir claramente los síntomas de una y otra deficiencia.

El interés por el ácido α-linolénico aumentó desde el momento en que se descubrió la existencia de una competencia entre las series n-6 y n-3 (Holman, 1986) y la mayor afinidad de este ácido graso por la delta-6 desaturasa (Brenner y Peluffo, 1966), atribuyéndole a él y a sus derivados de cadena larga, un papel modulador de la desaturación y elongación de derivados de la serie n-6 y por tanto de su incorporación a tejidos (Budowski y Crawford, 1985). Asímismo, los derivados del ácido α-linolénico, especialmente el ácido docosahexaenoico (DHA ó 22:6n-3), juegan un papel primordial en la composición y función de determinados órganos especializados como el cerebro y la retina (Neuringer y Connor, 1986). Por último, el hecho de que los esquimales, un grupo con alimentación muy definida rica en pescado con alto contenido en ácidos grasos de la serie n-3, presentara una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, ha sugerido un papel importante de los derivados del 18:3n-3 como antiagregantes y antitrombóticos (Budowski y Crawford, 1985).

Así, el Comité de Nutrición del Niño Prematuro de la ESPGAN (1987) recomendó, además de una ingesta superior al 4.5% de la energía en ácido linoleico, la suplementación en ácidos grasos de la serie n-3 bajo la forma de ácido α-linolénico (≥ 0.5% de la ingesta energética). Todas estas recomendaciones están basadas en la suposición que el niño pretérmino no requeriría los derivados de cadena larga de los ácidos linoleico y linolénico, sino que éste podría sintetizarlos adecuadamente de sus precursores dietarios en cantidades suficientes para mantener las necesidades para el crecimiento tisular. Esta suposición ha cambiado en los últimos estudios de forma que la ESPGAN en sus últimas recomendaciones del año 1991, indicó la conveniencia de suplementar las fórmulas para recién nacidos de bajo peso con AGPI-CL de cadena larga de las series n-6 y n-3 hasta proporciones similares a las presentes en leche humana (AGPI-CL n-6, 1% y AGPI-CL n-3, 0.5%). Igualmente, la Comisión de las Comunidades Europeas (1996) ha especificado que los AGPI-CL podrán añadirse a las fórmulas para lactantes en cantidades no superiores al 2% y 1% del total de la materia grasa para los derivados de las series n-6 y n-3,

respectivamente. Además, dicho Organismo también especificó que el contenido en ácido araquidónico (AA ó 20:4n-6) no podría superar el 1% del total de la materia grasa y que el contenido en ácido eicosapentaenoico (EPA ó 20:5n-3) no podría ser superior al del ácido docosahexaenoico.

Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga

El ácido linoleico y el ácido α-linolénico compiten por la unión a un sistema de enzimas del retículo endoplasmático que permite la desaturación y elongación de estos AGE a AGPI-CL de las series n-6 y n-3 como el 20:4n-6 y el 22:6n-3. Las enzimas delta-5 y delta-6 desaturasas implicadas en la síntesis de 20:4n-6 y 20:5n-3 han sido bien caracterizadas (Brenner, 1971). Las reacciones implicadas en la inserción de un doble enlace en la posición delta-4 para la síntesis de 22:5n-6 y 22:6n-3 son más complicadas. Al principio se consideró la existencia de una delta-4 desaturasa que actuaría por un mecanismo semejante al de las otras dos enzimas. Sin embargo, hoy día se sabe que la síntesis del 22:6n-3 se realiza mediante un proceso en el que estarían implicadas la delta-6 desaturasa y una reacción de retroconversión (Voss *et al.*, 1991).

La síntesis de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL) depende de la presencia de ambos sustratos y de los productos de la reacción. Además, debido a que las enzimas son comunes tanto para la serie n-6 como la n-3, el balance de sustratos y productos de cada serie es también importante (Innis, 1991). La competencia por el uso de los sistemas enzimáticos de desaturación y elongación depende de los niveles relativos de AGE en la dieta. La delta-6 desaturasa, enzima limitante en la síntesis de AGPI-CL, presenta mayor afinidad por el ácido α-linolénico (Brenner y Peluffo, 1966), si bien la mayor abundancia relativa en la dieta de 18:2n-6 hace que los derivados de la serie n-6 estén en mayor concentración en la mayoría de los tejidos. Asimismo, la enzima presenta mayor afinidad por los dos AGE que por el ácido oleico (Brenner y Peluffo, 1966), por lo que la síntesis de derivados de cadena larga a partir del oleico está normalmente inhibida.

La cantidad de las desaturasas está regulada por diversos factores nutricionales, hormonales y ambientales. Los productos de reacción de la delta-6 y delta-5 desaturasas producen una retroinhibición de la actividad de estos enzimas (Christiansen *et al.*, 1991), en tanto que una

proteína aislada del citosol produce un aumento de la actividad de la delta-6 desaturasa por un mecanismo que parece estar relacionado con la eliminación del 18:3n-6, producto de la reacción del medio (Leinkin y Brenner, 1986). Una dieta rica en proteínas produce un aumento de la actividad de la delta-6 desaturasa y una disminución de la delta-9 (Peluffo *et al.*, 1971). El tipo de proteína también tiene cierta influencia sobre el enzima (Lindholm y Eklund, 1991). La insulina produce un aumento de la actividad de la delta-9, delta-6 y delta-5 desaturasa en animales de experimentación, mientras que el glucagon, la adrenalina y los corticoides producen una inhibición de la delta-6 y delta-5 desaturasa mediante un mecanismo mediado por el AMP_c (Brenner, 1990) o mediante la inducción de una proteína inhibidora citosólica como se ha demostrado con el uso de dexametasona (Marra *et al.*, 1986; 1988). Las desaturasas presentan además un ritmo circadiano y su actividad varía con la época del año y con la edad (Ulmann *et al.*, 1991). Otro factor a tener en cuenta es la fluidez de la membrana, puesto que son enzimas situadas en la membrana y que sintetizan AGPI, factores importantes en la regulación de la misma. Un aumento del contenido del colesterol de la membrana produce un aumento de la actividad de las desaturasas *in vitro* (Garda y Brenner, 1984). En cambio, en posteriores experimentos realizados *in vivo*, se ha observado que el aumento de colesterol de la membrana, produce una disminución de la actividad de la delta-6 y delta-5 desaturasas y un aumento de la delta-9 (Leikin y Brenner, 1987), y la eliminación de colesterol, el efecto contrario (Leikin y Brenner, 1988).

Los cambios en la composición de ácidos grasos tisulares, después de la ingesta de diferentes tipos de grasa, sugiere que la tasa de síntesis de 20:4n-6 y 22:6n-3 está más relacionada con los requerimientos tisulares determinados por la síntesis y el recambio de membranas que con la cantidad de 18:2n-6 y 18:3n-3 en la dieta (Innis, 1991).

El metabolismo de los ácidos grasos esenciales (AGE) difiere en algunos aspectos importantes del metabolismo de los AGPI-CL n-6 y n-3. Aunque el 18:2n-6 y 18:3n-3 pueden ser desaturados y elongados a 20:4n-6 y 22:6n-3 respectivamente, la desaturación es sólo uno de los pasos de las distintas rutas potenciales para el metabolismo de estos ácidos grasos. La ß-oxidación tanto para el 18:2n-6 como para el 18:3n-3 se produce fácilmente en la mitocondria (Innis, 1991). El ácido linoleico (18:2n-6) también se utiliza en la síntesis de fosfolípidos y ésteres de colesterol y se encuentra en el tejido adiposo en cantidades relacionadas con el aporte dietético (Widdowson *et al.*, 1975; Field *et al.*, 1985). Por el contrario, el 20:4n-6 y 22:6n-3 generalmente tienden a ser

menos oxidados, se encuentran sólo en pequeñas cantidades en los depósitos lipídicos y forman parte preferentemente de los fosfolípidos tisulares. Estas diferencias en el metabolismo son fácilmente explicadas por varias razones:

1) La conocida especificidad de sustrato de las aciltransferasas implicadas en la síntesis y remodelación de los fosfolípidos (Innis, 1991).
2) Las diferencias en la oxidación implicadas en el acortamiento inicial de la cadena en los peroxisomas (Innis, 1991).
3) La baja actividad de las aciltransferasas mitocondriales dependientes de carnitina para los AGPI-CL de 20 y 22 carbonos (Norum *et al.*, 1989; Innis, 1991).

El uso de 18:2n-6 y 18:3n-3 para la oxidación y acilación también explica porqué cantidades equimoleculares de 20:4n-6 y 22:6n-3 son mejores fuentes de AGPI-CL para las membranas que sus precursores. Los factores que controlan o influyen en el reparto del 18:2n-6 y del 18:3n-3 entre las rutas potenciales de desaturación, acilación directa y oxidación, son desconocidos.

Los AGPI-CL, ácido dihomogammalinolénico (20:3n-6), AA y EPA, son considerados como precursores indispensables para la síntesis de diferentes grupos de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos que actúan como potentes reguladores de varias actividades celulares y tisulares. Además, se necesitan cantidades relativamente altas de AGPI-CL en el desarrollo perinatal para la incorporación a los fosfolípidos de membrana en todos los tejidos. La calidad y cantidad del contenido en AGPI-CL en las membranas tienen una relevancia estructural y funcional modulando las propiedades de membrana tales como la fluidez, permeabilidad, actividad de los receptores y enzimas ligados a membranas y transporte de las señales numorales y eléctricas (Koletzko, 1986; Clandinin *et al.*, 1991).

Transporte placentario de ácidos grasos al feto

La placenta es el órgano que lleva a cabo el transporte activo de nutrientes al feto. Se conoce bastante menos del transporte de lípidos a través de la placenta que del transporte de otros

nutrientes como aminoácidos o glucosa. Ésto se debe principalmente a que la mayor parte de los modelos animales han demostrado poca capacidad para el almacenamiento y/o transporte de lípidos y a que la placenta humana no ha sido estudiada *in vivo*, obteniéndose la mayor parte de la información de estudios *in vitro* de cultivos celulares o lóbulos perfundidos de placenta (Booth *et al.*, 1981). Aún así, la placenta humana parece tener una capacidad considerable para el transporte de lípidos usando transportadores específicos para ácidos grasos o mecanismos más complejos de disociación de lipoproteínas mediante la lipoproteín lipasa placentaria, captación de triglicéridos, oxidación, síntesis e interconversión de ácidos grasos, así como liberación al plasma fetal de ácidos grasos libres o lipoproteínas (Coleman, 1986).

La placenta además juega un papel importante en la transferencia de AGE que al no poder ser sintetizados deben proceder necesariamente de la dieta materna. Así, la transferencia selectiva de AGE ha sido demostrada en primates anestesiados (Portman *et al.*, 1969) y en placenta humana aislada in vitro (Dancis *et al.*, 1973; Dancis *et al.*, 1974). Otro aspecto interesante es la capacidad de la placenta para transferir AGPI-CL al feto. Ruyle *et al.* (1990) encontraron una diferencia arteriovenosa significativa para el DHA (22:6n-3) tanto en plasma como en eritrocitos de cordón, sugiriendo un papel importante, no sólo del plasma materno sino de los eritrocitos, en la transferencia de este ácido graso al feto. En el mono Rhesus, se ha demostrado que los neonatos de madres alimentadas con una dieta deficiente en ácidos grasos de la serie n-3, presentan concentraciones de 22:6n-3, aunque inferiores a las normales, superiores a las de sus madres, indicando un transporte selectivo a través de la placenta (Neuringer *et al.*, 1984).

En cuanto a la capacidad de desaturación y elongación de la placenta, se encuentran datos contradictorios en la bibliografía. Ravel *et al.* (1985) no encontraron actividad desaturásica en microsomas de placenta de rata, así como tampoco Chambaz *et al.* (1985) encontaron actividad en microsomas de placenta humana. Sin embargo en placenta humana perfundida, se ha demostrado la transformación de ácido linoleico en AA (Zimmerman *et al.*, 1979), por lo que este mecanismo podría ser esencial para el mantenimiento de la alta producción de prostaglandinas que ocurre en la placenta. Estos datos contradictorios se pueden deber a diferencias metodológicas y probablemente a la presencia de desaturasas en la placenta humana pero con baja actividad. Por otra parte, la administración de 18:3n-3 marcado a conejas de indias gestantes, produjo una disminución de 18:3n-3 y un incremento de 22:6n-3 marcado durante el paso de hígado materno

a la placenta, al hígado fetal y al cerebro, indicando que tanto los tejidos maternos como los fetales contribuyen a la desaturación y elongación de 18:3n-3 en el útero (Crawford *et al.*, 1976).

La posibilidad de que el feto humano sea capaz de producir AGPI a partir de sus precursores ha sido puesta en duda, si tenemos en cuenta que la disminución de AGPI de las series n-6 y n-3 en plasma y eritrocitos encontrada en niños recién nacidos a término y pretérmino alimentados con fórmulas artificiales, sugiere una baja actividad de las desaturasas y elongasas en el recién nacido y por tanto en el feto (Koletzko *et al.*, 1989; Carlson *et al.*, 1986). Sin embargo, hay que mencionar que se ha demostrado actividad delta-6 y delta-5 desaturasas en hígados de fetos humanos (Chambaz *et al.*, 1985) y muy recientemente Salem *et al.* (1996) utilizando isótopos estables ha demostrado que el recién nacido prematuro es capaz de convertir AGE en AGPI-CL, aunque el grado de conversión puede ser limitado para las necesidades corporales. En resumen, parecen existir ciertas evidencias de la existencia de actividad desaturasa en la placenta y el hígado fetal humano, sin embargo el mecanismo principal de aporte de AGPI al feto sería la transferencia selectiva a través de la placenta.

Captación de ácidos grasos poliinsaturados en el período perinatal

Durante el último trimestre de gestación se produce una acumulación de AGPI-CL en los tejidos fetales, muy especialmente en los del sistema nervioso central, que continúa en el periodo postnatal. Los estudios dedicados a la incorporación tisular de ácidos grasos en el feto son de especial interés debido a que a partir de ellos se pueden establecer los requerimientos de los recién nacidos pretérmino para conseguir un crecimiento y un desarrollo funcional en estos niños que se asemeje, en la medida de lo posible, al desarrollo intrauterino.

Se ha podido estimar el acúmulo de ácidos grasos en el cerebro de niños que fallecieron a diferentes edades gestacionales. Clandinin *et al.* (1980) estudiaron un grupo de 14 niños con edades gestacionales entre 26-44 semanas que murieron antes de los 3 días de vida. La cantidad de AGPI en el cerebro tendió a incrementarse conforme avanzaba la gestación. Se estimó que aproximadamente 31.3 mg de ácidos grasos de la serie n-6 y 14.5 de la serie n-3 se depositaban cada semana en los tejidos cerebrales de los cuales el 98%-99% eran derivados de larga cadena de ambas series. Martínez (1991) realizó un estudio en niños con edades gestacionales

comprendidas entre 26 y 42 semanas que murieron durante las primeras horas de vida sin haber recibido alimentación. En estos estudios se pudo observar que la acumulación de AGPI de las series n-6 y n-3 en la parte anterior del cerebro fue de 85 mg y 30 mg, respectivamente, por semana. Estas cantidades fueron superiores a las del estudio de Clandinin, aunque ambos coinciden en señalar que la mayor parte de estos ácidos grasos eran AGPI-CL y que la acumulación de derivados de la serie n-6 fue dos veces superior que la de n-3. En el mismo estudio de Martínez se analizaron tejidos de niños hasta 2 años de edad, indicando que los ácidos grasos de las series n-6, n-3 y n-9 aumentaban de forma exponencial en el cerebro durante el desarrollo prenatal, incrementándose tan sólo de forma lineal durante el postnatal.

Otro estudio realizado también por Clandinin *et al.* (1981b) demostró que durante las 5 primeras semanas de vida no se produce una acumulación significativa de AGPI-CL en hígado y en cerebro sugiriendo que la síntesis estaría limitada y como consecuencia la velocidad máxima de acumulación de estos ácidos grasos en los tejidos no ocurriría hasta varias semanas después del nacimiento.

La retina como otros tejidos neurales, presenta un contenido excepcionalmente alto de 22:6n-3 especialmente localizado en el segmento externo de los fotorreceptores (Bazan y Scott, 1990). Al igual que en el cerebro, la mayor parte de los AGPI-CL presentes en los tejidos de la retina se depositan entre la 24ª semana de gestación y el nacimiento.

Los requerimientos de 20:4n-6 y 22:6n-3 en el sistema nervioso central pueden ser cubiertos mediante diferentes mecanismos (Innis, 1994):

- Desaturación y elongación de 18:2n-6 y 18:3n-3 en el propio sistema nervioso central.
- Captación de 20:4n-6 y 22:6n-3 formados en el hígado y secretados al plasma.
- Captación de 20:4n-6 y 22:6n-3 transferidos al plasma a través de la placenta o aportados por la dieta después del nacimiento.

La importancia relativa del mecanismo de captación de AGPI-CL del plasma y el de

síntesis *in situ* a partir de sus precursores, es un problema fundamental que necesita ser resuelto para establecer los requerimientos de AGPI-CL de las series n-6 y n-3 del sistema nervioso central en desarrollo. Varios estudios han mostrado que el cerebro maduro y en desarrollo puede desaturar y elongar AGE en animales de experimentación (Cook, 1978; Sanders y Naismith, 1980; Moore *et al.*, 1990; Moore *et al.*, 1991; Green y Yavin, 1993). Las células endoteliales del sistema vascular del cerebro pueden desaturar y elongar 18:2n-6 y 18:3n-3 a 20:4n-6 y 20:5n-3, pero no completan la síntesis la síntesis de 22:5n-6 y 22:6n-3 (Moore *et al.*, 1990). Por otro lado, los astrocitos pueden sintetizar 20:4n-6 y 22:6n-3 que tras ser liberados pueden incorporarse a las neuronas del cerebro y del cerebelo (Moore *et al.*, 1991). El ojo también posee los sistemas enzimáticos de conversión del 18:3n-3 a 22:6n-3 (Wetzel *et al.*, 1991). Estudios recientes han demostrado que la síntesis de 22:6n-3 se da en epitelio pigmentario retiniano (Wang y Anderson, 1993). Así, el endotelio capilar del cerebro, junto a los astrocitos y al pigmento pigmentario retiniano, podrían sintetizar y aportar 22:6n-3 a las células neuronales. Cerebro y retina también pueden captar e incorporar 20:4n-6 y 22:6n-3 del plasma (Sinclair, 1975; Li *et al.*, 1992; Green y Yavin, 1993). Parece ser que el 22:6n-3 producido en el hígado puede ser transfundido al cerebro mediante lipoproteínas plasmáticas (Scott y Bazan, 1989; Bazan y Scott, 1990), pero la importancia cuantitativa de este proceso en diferentes estadíos del desarrollo no está clara. Estudios recientes en ratas han sugerido que el 20:4n-6 y 22:6n-3 producidos en el hígado contribuyen muy poco al *pool* de AGPI-CL del cerebro durante la última parte de la gestación (Green y Yavin, 1993). Se ha sugerido un papel importante de la α-fetoproteína en la transferencia de AGPI-CL del plasma al sistema nervioso central ya que es una proteína presente en el plasma durante el desarrollo fetal y que contiene grandes cantidades de 20:4n-6 y 22:6n-3 no esterificado (Lampreave *et al.*, 1982; Calvo *et al.*, 1988). Por otro lado, también se ha especulado con la posibilidad de que la 2-acil-lisofosfatidilcolina intervenga en el transporte de AGPI-CL al cerebro (Thies *et al.*, 1992; Brindley, 1993).

Estado de ácidos grasos esenciales maternales y fetales durante la gestación

En los últimos 50 años, la influencia de la nutrición materna sobre el crecimiento fetal ha sido ampliamente estudiada en relación al establecimiento de estados de malnutrición proteico energética en el feto. Ha sido recientemente cuando se ha examinado en humanos el papel de los ácidos grasos n-6 y n-3 durante la gestación.

Crawford *et al.* (1981) estimaron que el incremento de ácidos grasos en la mujer gestante es del 1% de la energía con respecto a la mujer no embarazada y calcularon un aumento del 0.5% aproximadamente en AGPI-CL de las series n-6 y n-3. Así, Houwelingen *et al.* (1993c) encontraron una correlación positiva entre la cantidad de ácido linoleico de los eritrocitos maternos y los tejidos fetales. Asimismo, existió una correlación positiva entre el porcentaje de 22:6n-3 en el plasma materno y fetal. La relación entre los tejidos maternos y fetales fue más pronunciada a partir de la 10ª semana de gestación.

Foreman-van Drongelen *et al.* (1995) han estudiado la influencia del aporte prenatal de AGPI-CL en el crecimiento prenatal y en los niveles postnatales de AGPI-CL, indicando que el estado de AGPI-CL de niños pretérmino en el nacimiento está relacionado con el crecimiento prenatal. Además, demostraron que a una edad postconcepcional equivalente a la de un niño a término, el estado de AGPI-CL está determinado no sólo por la dieta, sino también por el nivel de AGPI-CL que los niños presentan en el momento del nacimiento.

Según trabajos recientes, la dieta materna no contiene suficiente DHA para garantizar un adecuado aporte al feto. Estudios realizados por Monique *et al.* (1995) indican que durante el embarazo existe un deterioro progresivo del estado de DHA en la madre, por lo que la capacidad materna para suministrar DHA al feto podría ser insuficiente. Estos autores han indicado que este hecho podría estar relacionado con el hábito de ingerir una dieta rica en 18:2n-6. La idea de que la dieta de la mujer gestante pueda estar desequilibrada en cuanto al contenido en ácidos grasos de las series n-6 y n-3 ha sido también indicada en otros trabajos (Jaarsveld *et al.*, 1994). En ellos se ha sugerido que sería beneficioso para la madre y para el hijo incrementar la ingesta materna de DHA, bien fomentando el consumo de pescado o incluso suplementando la dieta de la madre específicamente con DHA.

Yonekubo *et al.* (1994a) encontraron una mayor capacidad de aprendizaje en las crías de ratas que habían sido alimentadas con una dieta rica en aceites de pescado. Posteriormente, el mismo grupo de trabajo describió que los fetos y las crías de ratas que habían sido alimentadas durante la gestación con una dieta rica en aceites de pescado presentaron cambios en las actividades desaturasas a nivel hepático y una disminución de la concentración de 20:4n-6 (Yonekubo *et al.*, 1994b). Puesto que el 20:4n-6 es un ácido graso que ha sido correlacionado

con el crecimiento durante el periodo postnatal temprano (Koletzko y Braun, 1991; Carlson *et al.*, 1993) se necesitan más estudios para llegar a una conclusión válida sobre la conveniencia de suplementar la dieta de las madres con ácidos grasos de la serie n-3 durante la gestación.

LECHE HUMANA

El gran triunfo de los mamíferos ha sido la ventaja evolutiva que ha supuesto la síntesis por la propia madre de un alimento adecuado para la descendencia, evitando así una dependencia directa de la cantidad y calidad de alimentos. En el caso de la especie humana, ésto es sobre todo especialmente importante porque permite continuar el desarrollo del recién nacido de forma extrauterina. Por eso, todos los organismos internacionales de nutrición y muy especialmente la OMS (1981) recomiendan la leche materna como el alimento idóneo para los lactantes humanos dadas sus especiales características de composición que no sólo cubren los requerimientos nutricionales, sino que aportan otros componentes favorecedores del crecimiento y factores de protección inmunológica.

Composición de la leche humana

La leche humana se compone fundamentalmente de proteínas, lípidos e hidratos de carbono, los cuales aportan un valor energético medio de 67-75 Kcal/dl (Macy y Kelly, 1961; Tsang y Nichols, 1988). También, existen otros componentes en menor proporción tales como minerales, inmunoglobulinas, enzimas, vitaminas, células y otros de los que a veces se desconoce su utilidad fisiológica. Los lípidos de la leche humana suministran el 60-68% de la energía total y están formados por triglicéridos (98%), fosfolípidos (1.3%), colesterol (0.4%) y otros lípidos traza derivados de la molécula de glicerol (Jensen *et al.*, 1992a). Estos lípidos se encuentran emulsionados en glóbulos grasos, con triglicéridos y ácidos grasos en su núcleo, rodeados de una membrana procedente de las células de la glándula mamaria, compuesta de fosfolípidos y ésteres de colesterol en igual proporción (Bitman *et al.*, 1983; Bitman *et al.*, 1984; Jensen *et al.*, 1990).

La composición de los lípidos de la leche materna es variable dependiendo del grado de maduración. La cantidad de grasa va aumentando desde las secreciones en el preparto o precalostro, calostro, leche de transición y leche madura desde de 1.1-1.3 hasta 4.1 g/dl (Hamosh *et al.*, 1985; Bitman *et al.*, 1986). Los triglicéridos aumentan su concentración desde 2.[illegible] g/dl en el calostro, a 3.5 g/dl en la leche de transición y 3.9 g/dl en la leche madura (Harzer *et al.*, 1983). En el caso de los fosfolípidos, su concentración permanece prácticamente constante para Harzer *et al.* (1983), mientras que para Bitman *et al.* (1983) su contenido en la leche del preparto oscila alrededor de un 3% de los lípidos totales, siendo un 1.1% en el calostro y menos del 1% en la leche de transición y madura (Bitman *et al.*, 1983). En relación al colesterol, su concentración disminuye conforme avanza la lactación, oscilando entre 36 mg/dl en calostro y 19 mg/dl en leche madura (Boersma *et al.*, 1991).

La mayoría de los lípidos presentes en cualquier tipo de leche son triglicéridos, desde el 93% en las primeras secreciones hasta un 98% en la leche madura, si bien después del parto se observa un incremento de algunos diglicéridos (Bitman *et al.*, 1986). En relación a los ácidos grasos se han llegado a detectar hasta 185 en la leche humana (Jensen *et al.*, 1990). Otro aspecto es que los ácidos grasos esterificados con el glicerol son de isomería cis, aunque existe entre un 2 y un 18% de la forma trans, procedentes de la grasa parcialmente hidrogenada de la dieta (Hundrieser *et al.*, 1983). La grasa saturada contiene ácidos grasos desde el ácido butírico (4:0) hasta el 26:0 en algunos casos, destacando la existencia de pequeñas cantidades de ácidos grasos de número impar de átomos de carbono (Tomarelli, 1988). Los ácidos grasos esteárico, palmítico, oleico y linoleico forman la mayoría de los triglicéridos, presentando además una distribución asimétrica. El palmítico se localiza preferentemente en la posición 2, mientras que el esteárico, oleico, linoleico y α-linolénico aparecen en la posición 1 ó 3 (Hundrieser *et al.*, 1983; Wall *et al.*, 1992; Clark y Hundrieser, 1993).

Con respecto a los fosfolípidos sus principales fracciones son: fosfatidilcolina (PC, 30%), fosfatidiletanolamina (PE, 28%) y esfingomielinas (SM, 32%) (Jensen, 1989a; Jensen, 1989b), aunque también se han detectado pequeñas cantidades de fosfatidilserina (PS) y fosfatidilinositol (PI), junto a cerebrósidos y gangliósidos. Bitman *et al.* (1984) describieron resultados similares, aunque indicando una menor proporción de PE.

Conforme avanza la lactación, la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos permanece prácticamente constante en el calostro, en la leche de transición y en la leche madura (Bitman *et al.*, 1983). En relación al tipo de ácidos grasos presentes en dichos fosfolípidos se ha descrito que el 11.3% son AGPI-CL frente a tan sólo el 1.5% en los triglicéridos (Kohn, 1992). Pero puesto que entre el 96 y el 99% de los lípidos totales de la leche humana son triglicéridos, alrededor del 90% de los AGPI-CL estarían contenidos en la fracción de lípidos neutros.

El colesterol es el principal componente de los esteroles de la leche (10-20 mg/dl). La mayor parte se localiza en las membranas de los glóbulos grasos de la misma, cuya cantidad no se ve afectada por la dieta (Jensen, 1989a; Jensen, 1989b). La mayoría se encuentra en forma libre y tan sólo entre un 10-20% se encuentra esterificado, principalmente con AGPI. El colesterol va cambiando progresivamente su concentración conforme la leche va madurando. Así, de un 3.4% del total de los lípidos disminuye a un 0.5% en la leche madura, aproximadamente. Los ésteres de colesterol también disminuyen aunque no en la misma proporción. De un 27-40% del colesterol total descienden a un 20% (Bitman *et al.*, 1983). La composición en ácidos grasos esterificados a la molécula de colesterol es variable y puede ser afectada por la síntesis lipídica de la glándula mamaria (Clark y Hundrieser, 1993).

Koletzko *et al.* (1992) han descrito que en el caso de países europeos, la proporción de ácidos grasos saturados varía entre un 41-48% y la de monoinsaturados entre un 37-41%, siendo el ácido palmítico (16:0) y oleico (18:1n-9), respectivamente, los ácidos grasos que contribuyen mayoritariamente. Para el caso del ácido linoleico, los valores oscilan entre el 7-8% en países como Polonia y Reino Unido, entre el 9-13% en los países nórdicos y en otros como en España entre el 15-16%. El contenido en ácido linolénico se encuentra en un rango comprendido entre 0.7-1.3%. Los AGPI-CL más importantes, el AA y DHA, representan el 0.4-0.6% y 0.2-0.4%, respectivamente (Koletzko *et al.*, 1992). Si comparamos estas cifras con la leche materna de una población americana, el ácido linoleico, linolénico, araquidónico y docosahexaenoico se encuentran entre el 8-16%, 0.5%, 0.5-0.7% y 0.2-0.4%, respectivamente (Innis, 1992).

En el caso de los estudios realizados en los países africanos, todos coinciden en que el contenido de saturados excede del 50% del total de los ácidos grasos debido sobre todo al 12:0 (20%) y al 14:0 (30%). Por el contrario, la proporción de monoinsaturados es inferior en la

población africana con respecto a la europea, no excediendo del 30% en la mayoría de los estudios. Para los AGE y sus derivados de cadena larga, las cifras son muy semejantes a las encontradas para las madres europeas, con la posible excepción de un mayor contenido de AGPI-CL n-6 en las poblaciones africanas.

Con respecto a la composición en ácidos grasos del calostro en relación a la leche madura, ésta presenta un contenido más bajo en ácidos grasos de cadena corta y media (Gibson y Kneebone, 1981). Entre los ácidos grasos mayoritarios, el 16:0 es el que presenta una menor variabilidad (Villacampa *et al.*, 1982), aunque su proporción suele ser mayor que en la leche madura. En estos estudios, el 18:1n-9 se encuentra en mayor proporción en el calostro junto con el contenido total en monoinsaturados. En el caso de los AGE, su concentración en el calostro (18:2n-6, 7.82%; 18:3n-3, 0.41%) es inferior a la de la leche madura (18:2n-6, 10.75%; 18:3n-3, 0.59%) (Gibson y Kneebone, 1981), resultados que son también semejantes a los encontrados por Villacampa *et al.* (1982). Por el contrario, el contenido en AGPI-CL del calostro es un 4% mayor que en la leche de 21 días. Los AGPI-CL derivados del 18:2n-6 representan el 2.6% frente al 1.4% de la leche madura, mientras que los derivados del 18:n-3 constituyen el 1.4% para el calostro y el 0.7% en la leche de 3 semanas (Gibson y Kneebone, 1981). Así, los AGPI-CL más representativos son el 20:4n-6 con 0.71% y 0.40% y el 22:6n-3 con 0.64% y 0.32% para el calostro y la leche madura, respectivamente.

Las principales diferencias de composición entre la leche de madres de niños nacidos a término y pretérmino se localizan en los ácidos grasos de menos de 14 átomos de carbono y en los AGPI-CL. Para el caso del niño nacido a término, éste recibe de su madre un 10% de los ácidos grasos de cadena media frente a un 17% si fuera pretérmino (Bitman *et al.*, 1983). Si comparamos los AGE, la leche de madres de niños pretérmino presenta un contenido en 18:2n-6 igual o ligeramente inferior con respecto a la leche de madres a término. Sin embargo, la presencia del 18:3n-3 es marcadamente inferior en la leche del pretérmino. Con respecto a los niveles de AGPI-CL tanto de la serie n-6 como de la n-3, éstos muestran un mayor contenido en la leche de las madres de niños pretérmino o muy pretérmino en el calostro y la leche de transición en relación a la leche de un niño a término (Bitman *et al.*, 1983), aunque esas diferencias tienden a igualarse cuando la leche es madura. De esta manera, los niños pretérmino pueden recibir los AGPI-CL necesarios para completar su desarrollo, especialmente del cerebro y de la retina

(Clandinin *et al.*, 1982).

Modificación de la composición en ácidos grasos de la leche materna por la dieta

Diversos estudios realizados en mujeres parecen indicar que la composición en ácidos grasos de la leche es un estrecho reflejo de la grasa de la dieta. Así, cuando la dieta materna presenta un contenido bajo en grasa y alto en carbohidratos, la glándula mamaria sintetiza los ácidos grasos a partir de éstos, presentando una grasa más saturada (Hamosh *et al.*, 1992). De la misma manera, la composición en monoinsaturados (Koletzko *et al.*, 1992) y en AGE de la leche humana varía en función de la composición de la dieta (Jensen, 1989a; Koletzko *et al.*, 1991; Koletzko *et al.*, 1992). Por ejemplo, el consumo de aceites vegetales en Estados Unidos incrementó el contenido en ácido linoleico de un 8% en los años 60 y 70 hasta un 15% en los 80 (Bitman *et al.*, 1983; Jensen, 1989a). Sin embargo, la cantidad en AGPI-CL de la leche está menos afectada por la región geográfica y por los hábitos dietarios (Koletzko *et al.*, 1991; Koletzko *et al.*, 1992).

Como indicador de la procedencia de los AGPI-CL de la leche humana se ha propuesto la relación de ácidos grasos de la leche y del plasma materno (Hamosh *et al.*, 1992). Así, una relación próxima a 1 indicaría un paso desde la circulación materna, bien procedentes de la dieta o de los depósitos de grasa; por el contrario una relación superior a 1 indicaría una síntesis por parte de la glándula mamaria. Hamosh *et al.* (1992) analizaron los lípidos del calostro y del plasma de 30 madres de niños nacidos a término en los dos primeros días después del parto y observaron que la relación era superior a 1. De esta manera, estos autores mostraban que hay una elongación-desaturación en la glándula mamaria después de dar a luz. Por otro lado, la elevada concentración de AGPI-CL en el calostro de madres de niños pretérmino, indicaría que las células mamarias son capaces de elongar y desaturar los ácidos linoleico y linolénico después del parto, siendo esto independiente de la duración del embarazo (Hamosh *et al.*, 1992).

Se ha podido comprobar que existe una regulación distinta de la concentración de AGE o sus derivados de cadena larga. Para el caso del 18:2n-6 y del 18:3n-6 se ha observado que en leche madura el coeficiente de variación es más de dos veces superior al encontrado para sus

derivados n-6 de larga cadena (Koletzko *et al.*, 1992). Más aún, los AGPI-CL de la leche no parecen tener relación alguna con sus precursores (Gibson y Kneebone, 1984; Koletzko *et al.*, 1988). Por el contrario, los AGPI-CL n-6 y n-3 están correlacionados entre ellos, lo que hace suponer que ambas series comparten una misma ruta de secreción en la leche, ya que en la mayor parte de los estudios realizados en países con distintos hábitos dietarios, la proporción entre ellos suele ser muy constante, alrededor de 2 aproximadamente (Koletzko *et al.*, 1992) y muy semejante a la encontrada en el cerebro neonatal y en otros tejidos ricos en membranas (Svennerholm, 1968; Martínez, 1991).

Sólo en el caso de vegetarianos estrictos y mujeres que consumen una gran cantidad de pescado habitualmente en la dieta, presentan diferencias en el contenido de 22:6n-3 en la leche con respecto a los grupos controles (Koletzko *et al.*, 1991; Sanders y Reddy, 1992). El contenido de 20:4n-6 es similar en leche de mujeres vegetarianas estrictas, vegetarianas y omnívoras, pero el contenido de 22:6n-3 en el grupo de vegetarianas estrictas es menor que en los otros dos, indicando que diferencias extremas en los hábitos dietarios pueden cambiar la composición de la leche humana en cuanto al contenido en AGPI-CL (Sanders y Reddy, 1992). La cantidad de 22:6n-3 es mayor en la leche de madres con un consumo alto de pescado (Koletzko *et al.*, 1991) y en aquellas mujeres que reciben una suplementación con aceite de pescado en la dieta (Jensen *et al.*, 1992b). Sin embargo, a pesar de la concentración elevada de 20:5n-3 en el aceite de pescado, el ácido graso mayoritario de la serie n-3 en la leche es el 22:6n-3, sugiriendo que existe un mecanismo regulador para suministrar una cantidad relativamente constante de este ácido graso al recién nacido.

Estudios realizados en animales de experimentación y en humanos indican la relación existente entre la dieta materna, la composición en ácidos grasos de la leche y la de los tejidos de la descendencia. En un estudio realizado en ratas, se ha observado que una dieta suplementada con aceites de pescado incrementa marcadamente los niveles de DHA en la leche (Yeh *et al.*, 1990). Además, se ha comprobado que el incremento del DHA en la leche es transmitido al plasma de la descendencia (Yeh *et al.*, 1990) y, a su vez, a la PE de todas las fracciones subcelulares del cerebro de las crías (Yeh *et al.*, 1993). Resultados similares han sido descritos por otros investigadores (Galli *et al.*, 1971; Foote *et al.*, 1990; Arbuckle *et al.*, 1991).

Arbuckle e Innis (1993) también han podido comprobar que la suplementación de la dieta materna de cerdos con un 1% de aceite de pescado permite un aumento del contenido en DHA de la leche hasta un 1.5% frente al 0.1% de la leche de cerda de aquellas madres que no recibieron suplementación. Estos autores mostraron además que los cerdos recién nacidos alimentados con la leche rica en DHA (1.5%) presentaban niveles superiores de este ácido graso en hígado, eritrocitos, fosfolípidos plasmáticos, retina y en la membrana sináptica que aquellos neonatos alimentados con leche materna más pobre en éste (0.1%).

Sanders y Reddy (1992) han publicado que las proporciones de DHA en los lípidos totales de los eritrocitos de niños de madres vegetarianas estrictas alimentados al pecho es de 1.9% comparado con 6.2% en los niños alimentados por madres omnívoras como consecuencia del menor contenido de DHA en la leche debido a una dieta vegetariana (0.14% frente a 0.37% en los controles). Igualmente, la suplementación de aceite de pescado a la dieta materna produjo un incremento de DHA en los lípidos eritrocitarios del 4.5% al 6.1% en los niños alimentados al pecho (Jensen *et al.*, 1992b). Además, se ha podido comprobar que el DHA de la leche y de los eritrocitos de los recién nacidos alimentados al pecho está positivamente correlacionado con el DHA de la dieta materna.

Estos y otros estudios han provocado que organismos internacionales como el Comité para Grasas y Aceites en Nutrición Humana de la FAO/WHO (1994) recogieran la importancia de un adecuado aporte de DHA a la madre no sólo durante la gestación, como se ha comentado previamente en esta memoria, sino también durante la lactación.

EFECTO DE LA DIETA SOBRE EL ESTADO DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA

Comparación entre leche humana y fórmulas para lactantes

Como se ha descrito en el Apartado sobre composición de la leche humana, ésta presenta cantidades relativamente constantes de AGPI n-6 y n-3 de 20 y 22 átomos de carbono, aún considerando la variabilidad observada en la composición de la misma. Sin embargo, este tipo de derivados están ausentes en la mayor parte de las fórmulas adaptadas.

Según un estudio realizado por Clandinin *et al.* (1981a), la cantidad de AGPI-CL que aporta la leche humana sería suficiente para cubrir los requerimientos que para estos ácidos grasos presentan tanto niños a término como pretérmino.

Independientemente del tipo de alimentación recibida, después del nacimiento se produce una disminución del porcentaje de AGPI-CL en plasma y eritrocitos de recién nacidos (Pita *et al.*, 1989; Ponder *et al.*, 1992). Esta disminución es debida a la introducción de una dieta de composición muy diferente a la recibida intraútero, con una alta concentración de lípidos especialmente ricos en 18:1n-9 y 18:2n-6. Sin embargo, la cantidad absoluta de AGPI-CL en plasma disminuye muy poco al no estar influida por otros ácidos grasos mayoritarios en la dieta (Ramírez, 1992).

En cualquier caso, es un hecho conocido que los recién nacidos a término y pretérmino alimentados con leche humana presentan niveles superiores de AGPI-CL en plasma y eritrocitos (PC y PE) que aquellos que reciben una fórmula para lactantes (Sanders y Naismith, 1979; Putnam *et al.*, 1982; Carlson *et al.*, 1986; DeLucchi *et al.*, 1988; Clandinin *et al.*, 1989; Pita *et al.*, 1989; Koletzko *et al.*, 1989; Ponder *et al.*, 1992). Carlson indicó que el aporte de AGPI-CL por la leche humana proporcionaría una diferencia del 50% del nivel de DHA y el 15% del nivel de AA en los fosfolípidos de los eritrocitos con respecto a niños alimentados con una fórmula estándar (Carlson, 1993). Además, algunos trabajos han demostrado que los niños que toman

leche humana presentan concentraciones significativamente superiores de DHA en los fosfolípidos de la corteza cerebral que los alimentados con diferentes fórmulas convencionales sin AGPI-CL añadidos (Farquarson *et al.*, 1992; Makrides *et al.*, 1994).

Estos estudios han sugerido un cierto déficit de actividad desaturasa en el recién nacido, muy especialmente en el pretérmino debido a su mayor inmadurez y a la menor reserva de AGE (Warshaw y Kimura, 1973). En efecto, estudios *in vitro* han demostrado que la actividad desaturasa en hígado fetal humano a las 22 semanas de gestación es sólo la mitad que en el adulto (DeGomez Dumm y Brenner, 1975). Asímismo, la actividad delta-6 y delta-5 desaturasa en hígado de cerdos nacidos pretérmino es menor que en los nacidos a término (Clandinin *et al.*, 1985).

Recientemente, dos grupos de trabajo han medido *in vivo* la actividad desaturasa en recién nacidos mediante el empleo de isótopos estables. Ambos estudios concluyen que existe actividad desaturasa incluso en el niño pretérmino ya durante la primera semana de vida (Carnielli *et al.*, 1994b; Salem *et al.*, 1996). Si esta actividad desaturasa está mal regulada o es insuficiente para mantener las altas demandas tisulares es un hecho que por el momento no se ha podido determinar. De igual forma, las implicaciones que ésto tenga sobre los requerimientos en ácidos grasos de los recién nacidos no han sido determinadas.

Otro aspecto interesante, es que el efecto observado sobre el metabolismo de los AGPI en los niños alimentados al pecho parece ser diferente para los derivados de la serie n-3 que para los de la n-6 (Innis, 1993). Los niveles más elevados de 18:2n-6 en los fosfolípidos plasmáticos de niños alimentados con fórmulas se explican en parte por el mayor contenido de este ácido graso en las mismas (Carlson *et al.*, 1986; DeLuchi *et al.*, 1988; Pita *et al.*, 1989). Sin embargo, los niveles de 18:2n-6 siguen siendo altos en niños que han recibido fórmulas con contenido en este ácido graso esencial similar al de la leche humana (Putnam *et al.*, 1982). Un incremento en 18:2n-6 desde el 8% al 23% del total de ácidos grasos en la leche de cerda, obtenido mediante modificación de la dieta materna, no produjo un efecto significativo en la cantidad de 18:2n-6 de plasma y eritrocitos en las crías. Sin embargo, cerdos alimentados con fórmulas artificiales que contenían 16% de 18:2n-6, mostraron niveles superiores de este ácido graso que los alimentados con la leche de sus madres (Arbuckle *et al.*, 1994), indicando que el efecto de la alimentación con

leche materna sobre los derivados de la serie n-6 podría estar relacionado con el metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas ricas en fosfolípidos.

Para intentar corregir las alteraciones en los niveles de AGPI-CL encontrados en los niños alimentados con fórmulas se han seguido varias estrategias. La primera de ellas consiste en la adecuación de los niveles de AGE en las fórmulas cuidando tanto la cantidad de los mismos como la relación entre 18:2n-6 y 18:3n-3. La segunda consiste en la adición de AGPI-CL preformados de diferentes fuentes de origen animal o vegetal para imitar en la medida de lo posible la composición en ácidos grasos de la leche humana.

Relación ideal de los ácidos linoleico y α-linolénico en la dieta

Actualmente se cree que el contenido medio en ácido linoleico y α-linolénico y la relación entre ellos de la leche humana es lo ideal para el recién nacido y es el patrón a seguir en el diseño de fórmulas infantiles. Los recién nacidos son capaces de desaturar y elongar los precursores hasta derivados de 20 y 22 átomos de carbono (Carnielli *et al.*, 1994b; Salem *et al.*, 1996), pero se desconoce hasta que punto los AGE cubrirían por sí solos los requerimientos de AGPI-CL n-6 y n-3. Cuando el recién nacido es alimentado con leche humana posiblemente la relación entre los AGE resulte menos relevante al contener ésta AGPI-CL preformados. En cambio, cuando recibe una fórmula láctea sin AGPI-CL, la relación entre los AGE cobra especial importancia porque de ella depende la adecuada síntesis de AA y DHA. Sin embargo, la relación entre 18:2n-6 y 18:3n-3 para una fórmula adaptada no ha sido bien definida.

Durante los últimos años se han publicado numerosos trabajos, especialmente en animales de experimentación para determinar cuál es la cantidad necesaria de 18:3n-3 en la dieta y su relación con otros ácidos grasos de la misma como el 18:2n-6, para mantener una acumulación máxima de DHA en los tejidos neurales (Bourre *et al.*, 1989; Hrboticky *et al.*, 1990; Rioux e Innis, 1992; Arbuckle *et al.*, 1994). Se le ha prestado menos atención a la cantidad de AA en los tejidos debido al papel preponderante del 22:6n-3 a nivel del sistema nervioso central y de la retina y a que la modificación del contenido en 18:2n-6 de las fórmulas no conduce a un mayor nivel de 20:4n-6 en los lípidos eritrocitarios de los recién nacidos (Putnam *et al.*, 1982). En cerdos alimentados con una dieta rica en 18:2n-6 tampoco se produjo un aumento de 20:4n-6 en los

tejidos aunque sí de otros ácidos grasos de la serie n-6 como 22:4n-6 y 22:5n-6, además de la consiguiente reducción del contenido en los derivados de la serie n-3 (Arbuckle *et al.*, 1994). Por otro lado, un incremento de 18:3n-3 en la dieta siempre produce una disminución de 20:4n-6 a nivel tisular (Rioux e Innis, 1992; Clark *et al.*, 1992). Este efecto también se observa cuando se incluyen en la dieta derivados de cadena larga de la serie n-3 y es debido a la inhibición de la desaturación del 18:2n-6 así como a la competencia en las reacciones de acilación entre 20:4n-6 y 20:5n-3 (Innis, 1993).

Arbuckle *et al.* (1994) alimentaron varios grupos de cerdos recién nacidos con dietas que contenían diferentes relaciones de AGE y compararon los datos obtenidos con un grupo alimentado con leche de cerda. Los resultados de este estudio mostraron que la fórmula que contenía un 4% de 18:3n-3 (2.1% de la energía) proporcionaba una cantidad adecuada de ácidos grasos de la serie n-3 para permitir una acumulación de DHA de los fosfolípidos del sistema nervioso central similar a la de los animales alimentados con leche de cerda desde el nacimiento. Los niveles de DHA en el cerebro parecían estar más influenciados por la cantidad absoluta de 18:3n-3 que por la relación 18:2n-6/18:3n-3 en la dieta. Sin embargo, esta relación era más importante cuando la fórmula presentaba un contenido de 18:3n-3 más bajo. Las dietas con mayor contenido de 18:3n-3 produjeron una disminución de 20:4n-6 en los tejidos, más marcada en los fosfolípidos del hígado que en los del cerebro (Rioux e Innis, 1992; Arbuckle *et al.*, 1994).

Con respecto a la determinación de la relación óptima entre 18:2n-6/18:3n-3 en fórmulas para recién nacidos, no existe un acuerdo en los diversos trabajos realizados y no siempre arrojan conclusiones comparables a las encontradas en animales de experimentación.

Clark *et al.* (1992) estudiaron varios grupos de recién nacidos a término alimentados con distintas relaciones dietéticas de AGE observando que una relación de 18:2n-6/18:3n-3 de 4:1 ó 3:1 permitía una mayor incorporación de 22:6n-3 en los lípidos eritrocitarios con respecto a una relación de 19:1. Además, con la relación más baja (3:1), el contenido de 20:4n-6 plasmático disminuía en relación al resto de los niños alimentados con fórmula. Estos autores compararon los resultados con otro grupo que tomó leche humana, encontrando que los recién nacidos alimentados con cualquier fórmula presentaban un peor estado de 20:4n-6 y 22:6n-3 plasmático y eritrocitario. Este estudio sugiere que, al contrario de lo que ocurría en cerdos (Arbuckle *et al.*,

1994), el factor determinante de los niveles de DHA en recién nacidos alimentados con fórmulas es la relación 18:2n-6/18:3n-3 más que la cantidad absoluta de estos ácidos grasos en la dieta (Clark *et al.*, 1992). Sin embargo, estudios realizados por Ponder *et al.* (1992) han indicado que niños alimentados con dos fórmulas con relación 18:2n-6/18:3n-3 39:1 frente a 7:1, presentaban niveles similares de 22:6n-3 y también de 20:4n-6 en plasma y eritrocitos y que dichos niveles en ambos grupos eran también inferiores a los niños que recibieron leche humana.

Los estudios de Uauy *et al.* (1990) y Billeaud *et al.* (1993) arrojan nuevos resultados contradictorios al indicar que fórmulas con una relación 18:2n-6/18:3n-3 de 8:1 y 6:1 respectivamente, produjeron niveles de 22:6n-3 y 20:4n-6 en plasma y eritrocitos comparables a los encontrados en recién nacidos alimentados con leche humana.

Otra serie de trabajos realizados también en humanos han empleado fórmulas con diferente contenido de ácidos grasos esenciales pero manteniendo relaciones 18:2n-6/18:3n-3 más próximas al valor considerado como medio en la leche humana (10:1). Putnam *et al.* (1982) estudiaron niños a término que fueron alimentados con fórmulas con relaciones de AGE similares (9:1 y 12:1) pero una de ellas conteniendo 3 veces más linoleico y 4 veces más linolénico que la otra. Ambos grupos presentaron niveles similares de AA y DHA en los fosfolípidos eritrocitarios e inferiores a los de un grupo control alimentado con leche humana. Este estudio indica que el aumento de AGE en la dieta no produce un incremento paralelo de AGPI-CL.

Por el contrario, Innis *et al.* (1990) encontraron que una fórmula con un 2% de 18:3n-3 y una relación 18:2n-6/18:3n-3 similar a la de la leche humana permite una incorporación de ácidos grasos de la serie n-3 en los tejidos de niños de bajo peso similar a la que presentan los recién nacidos alimentados con leche humana.

Efecto de la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a las fórmulas adaptadas

a) *Estudios bioquímicos*

Como se ha discutido en el apartado anterior, el 22:6n-3 de la dieta es mucho más efectivo

para conseguir niveles superiores de este ácido graso en los tejidos que su precursor, el 18:3n-3 (Hoffman y Uauy, 1992). Tampoco el 18:2n-6 de la dieta consigue en niños alimentados con fórmulas los niveles de AA encontrados en los que reciben leche humana (Putnam *et al.*, 1982; Ponder *et al.*, 1992; Clark *et al.*, 1992). La otra alternativa para corregir las diferencias en la composición en AGPI-CL relacionadas con el tipo de alimentación parece ser suplementar las fórmulas directamente con AGPI-CL preformados.

Carlson *et al.* realizaron varios estudios a corto y a largo plazo para determinar si el aceite de pescado como fuente de DHA podría sustituir al DHA de la leche humana en la nutrición de los niños prematuros. El propósito de estos trabajos consistía por un lado en determinar el nivel de suplementación con aceites marinos para mantener el estado de DHA sin que los valores de los ácidos grasos de la serie n-6 fueran alterados, y por otro lado, conocer la mejor forma de administración de los aceites de pescado. Liu *et al.* (1987) establecieron que la adición de 11 mg DHA/Kg/día como aceite de pescado microdisperso en una fórmula proporcionaba una concentración de DHA en la misma semejante a la observada en leche materna (0.2%) y que era mucho más eficaz que una monodosis de aceite (Carlson *et al.*, 1986). Así, a las dos semanas de suplementación, los niveles de DHA plasmáticos de los recién nacidos fueron superiores con respecto a un grupo control (Liu *et al.*, 1987). Posteriormente, estos autores observaron que una variación de la ingesta dietaria de DHA entre 0.2-0.4% no suponía una modificación de la concentración de este ácido graso en los fosfolípidos plasmáticos y en los eritrocitos de los niños de bajo peso, pero en cualquier caso se observaban niveles superiores de DHA en plasma y eritrocitos en los niños alimentados con la fórmula suplementada en comparación con aquellos que recibieron una fórmula convencional. Estas diferencias aparecieron en plasma entre 1-2 semanas y en eritrocitos a las 3-4 semanas después de iniciarse la alimentación (Carlson *et al.*, 1991).

En un estudio a largo plazo realizado por este mismo grupo de trabajo en recién nacidos de bajo peso, se eligió el nivel más bajo de suplementación de DHA en las fórmulas (0.2% del total de ácidos grasos) (Carlson *et al.*, 1991). EL porcentaje de DHA en la fosfatidiletanolamina de los eritrocitos disminuyó en los niños controles alimentados con la fórmula sin suplementar desde el inicio del estudio hasta las 57 semanas postconcepcionales (6 meses después del nacimiento) manteniéndose después constante durante las próximos 8 meses. Por el contrario, en

los niños alimentados con la fórmula suplementada con aceite de pescado, el nivel de DHA fue superior, alcanzando niveles similares a los descritos previamente en recién nacidos pretérmino (Carlson *et al.*, 1986) y a término a los 4-6 meses de edad alimentados con leche humana desde el nacimiento (Putnam *et al.*, 1982).

Además del DHA, estos estudios también centraron su atención en los efectos de la suplementación con aceites marinos sobre el contenido en AA y EPA. El nivel de AA en los fosfolípidos plasmáticos y eritrocitarios no se modificó en los estudios a corto plazo siempre que la ingesta total de AGPI-CL n-3 procedentes de aceites marinos no excediera el 0.5% del total de los ácidos grasos. A largo plazo, el nivel de AA descendió significativamente en el grupo suplementado con aceite de pescado. En el caso del EPA, éste aumentó sus valores en los recién nacidos que recibieron la fórmula suplementada, descendiendo la relación AA/EPA en los fosfolípidos circulantes en comparación con los niños que recibieron una fórmula sin suplementar.

Otros autores analizaron la composición en ácidos grasos sanguíneos en niños de bajo peso alimentados con varias fórmulas de distinto contenido en AGE, junto a una fórmula suplementada con aceites de pescado y un grupo control de leche humana. Los resultados obtenidos fueron similares a los de Carlson *et al.* (1991), indicando que la suplementación con 0.35-0.40% de DHA a una fórmula permitía alcanzar en los recién nacidos de 7-10 días de vida una concentración similar de DHA en plasma y eritrocitos a los que recibieron leche humana (Uauy *et al.*, 1990; Birch *et al.*, 1992a; Birch *et al.*, 1992b; Hoffman y Uauy, 1992). A las 57 semanas postconcepcionales, estos estudios demuestran que los recién nacidos alimentados con la fórmula que contenía aceite de pescado fueron capaces de mantener los niveles de DHA e incluso llegaron a superar los niveles de aquellos que fueron alimentados con leche humana.

Estos estudios también han demostrado un mejor desarrollo retiniano en los niños que recibieron los AGPI-CL de la serie n-3 en la dieta, indicando que estos ácidos grasos se incorporarían no sólo a eritrocitos sino a membranas del tejido nervioso. Por razones obvias, este último aspecto no ha podido ser comprobado en recién nacidos humanos por lo que sólo se pueden obtener conclusiones claras a partir de los estudios realizados en animales de experimentación. Arbuckle *et al.* (1991) suplementaron una fórmula para cerdos con diferente contenido en aceite de pescado (0.3% y 0.8% de DHA) en comparación con otro grupo que

recibió leche de cerda (0.1% de DHA). Los resultados obtenidos en plasma y eritrocitos en el perfil de AGFI fueron similares a los estudios mencionados anteriormente en humanos. En el caso del DHA, sus niveles fueron superiores en los sinaptosomas del cerebro de cerdos que recibieron un suplemento de aceite marino que cuando fueron alimentados con leche de cerda, posiblemente debido al menor contenido de este ácido graso en la misma. A pesar de la mayor incorporación de ácidos grasos de la serie n-3, el cerebro no sufrió un descenso de AA y un incremento en EPA como ocurría en los fosfolípidos plasmáticos y hepáticos. Estos datos sugieren que el cerebro retiene poco EPA y mantiene los niveles de AA (Arbuckle *et al.*, 1991). Fueron propuestos dos mecanismos para justificar estos resultados. Por un lado, el EPA puede sufrir una ß-oxidación peroxisomal hepática o una rápida elongación-desaturación hasta DHA, lo que explicaría el bajo contenido en EPA en el cerebro. Por otro lado, la presencia de un transportador específico para el AA ligado a la α-fetoproteína justificaría el mantenimiento de este ácido graso del sistema nervioso.

Lin *et al.* (1994) analizaron la composición de los fosfolípidos de la retina en monos y observaron que aquellos que recibieron 0.3% de DHA en la dieta mejoraron el estado para este ácido graso en relación a un grupo control. Igualmente, Anderson y Connor (1994) comprobaron en gallinas que un 2.1% de DHA en la dieta mejoraba los valores de este ácido graso en cerebro e hígado de estos animales en relación a los que habían recibido un 2.2% en la fórmula como 18:3n-3.

A pesar de las ventajas que la suplementación con aceites de pescado pueda suponer sobre la función retiniana y el desarrollo del sistema nervioso central, son muchos los inconvenientes que presenta su administración. En primer lugar, los aceites de pescado contienen cantidades elevadas de ácidos grasos de la serie n-3 pero no de la n-6, que representados por el AA se encuentran en concentraciones elevadas en todos los tejidos incluído el cerebro y que son desplazados de los mismos cuando la cantidad de n-3 es muy alta en la dieta (Carlson y Salem, 1991). El AA además de comportarse como precursor de prostaglandinas y leucotrienos, se ha correlacionado positivamente con el crecimiento durante los primeros meses de vida, sugiriendo que este ácido graso podría actuar como promotor del mismo durante la vida postnatal temprana (Koletzko y Braun, 1991; Carlson *et al.*, 1993). Carlson y Salem (1991) también mostraron una asociación entre el AA de los fosfolípidos séricos e índices de desarrollo mental en niños

pretérmino, aunque para otros autores (Bjerve *et al.*, 1993) dicha asociación no parece estar suficientemente clara. En segundo lugar, los aceites de pescado contienen cantidades elevadas no sólo de DHA sino también de EPA. Este ácido graso se encuentra en bajas cantidades en los tejidos pero aumenta cuando se suplementa la dieta con aceites de pescado pudiendo producir trastornos en la coagulación a través de la formación de prostaglandinas de la serie 3, y alteraciones de la incorporación de ácidos grasos no sólo de la serie n-6, sino también de la n-3 en tejidos neurales. Además, el aumento de EPA en los tejidos neurales se ha relacionado con retraso del crecimiento y del desarrollo psicomotor en niños pretérmino (Carlson y Salem, 1991; Carlson *et al.*, 1992a). A menudo los aceites de pescado contienen componentes indeseables como productos de oxidación, impurezas de varias clases, componentes orgánicos menores diferentes de los ácidos grasos y algunos ácidos grasos con efectos nocivos como el 22:1 (Carlson y Salem, 1991). Asimismo, en humanos adultos se ha podido ver que la administración de aceite de pescado produce alteraciones de la función inmune como reducción de los leucocitos polimorfonucleares y de la quimiotaxis mediada por monocitos, así como reducción de la capacidad para generar agentes oxidantes implicados en la destrucción de bacterias (Carlson y Salem, 1991). Sin embargo, Uauy *et al.*, 1994 no encontraron efectos perjudiciales sobre el crecimiento, tiempo de coagulación y niveles de antioxidantes de niños de bajo peso alimentados con dietas que contienen aceites marinos.

Finalmente, se han realizado varios estudios en los que se suplementaron fórmulas infantiles para niños pretérmino con AGPI-CL de la serie n-3 y también de la n-6, en relación semejante a la de la leche humana. Los resultados obtenidos por Koletzko *et al.* (1989) indican que los niños pretérmino de 21 días de edad que recibieron una fórmula suplementada con 0.5% de AGPI-CL n-6 y n-3 presentaban un mejor estado de AGPI-CL en los fosfolípidos plasmáticos que aquellos que se alimentaron con una fórmula convencional. Sin embargo, estos valores fueron inferiores a los de niños alimentados al pecho que recibieron un 1.7% de AGPI-CL de sus propias madres. Posteriormente, Clandinin *et al.* (1992) suplementaron una dieta para niños pretérmino con 0.8% y 0.7% de AGPI-CL n-6 y n-3 respectivamente, y observaron que después de 4 semanas de alimentación, los niveles fueron similares a los de los niños que recibieron leche humana y además, estos valores fueron claramente superiores a los de aquellos niños que recibieron una fórmula estándar. Para otros autores, niveles dietéticos de 0.60% de DHA y 0.75% de AA para niños pretérmino serían suficientes para mantener los lípidos séricos de forma

semejante a los alimentados al pecho, sin mostrar ningún tipo de deficiencia (Kyle *et al.*, 1996). En otro estudio la suplementación de la dieta con AGPI-CL en cantidades similares a las encontradas en leche humana de niños a término mejoró el estado de AGPI-CL de estos niños sin apreciar efectos adversos sobre el crecimiento o los niveles de antioxidantes (Decsi y Koletzko, 1995).

b) *Estudios fisiológicos*

Desde hace algunos años, se sabe que la deficiencia en ácidos grasos puede provocar serias alteraciones en humanos y en animales de experimentación tales como cambios en el comportamiento y en el aprendizaje (Bourre *et al.*, 1989), empeoramiento de la agudeza visual (Neuringer *et al.*, 1984) y alta mortalidad perinatal (Pax *et al.*, 1992). Con el fin de conocer las implicaciones de un peor estado de AGPI-CL sobre el desarrollo del cerebro y la retina en recién nacidos se han realizado diversos estudios fisiológicos. La mayor parte de ellos se han centrado en la evaluación de la alimentación con leche humana o con fórmulas suplementadas o no con AGPI-CL sobre tests de agudeza visual y desarrollo mental. Bajo este punto de vista, niños a término y pretérmino se han tratado como dos entidades separadas debido a la mayor inmadurez de estos últimos y a que presentan menores niveles de AGPI-CL (Carlson, 1993). Ambos aspectos han sido corroborados en un estudio reciente en el que se ha observado que el estado de AA y DHA es inferior en niños pretérmino que en a término durante la vida postnatal temprana y que los niños pretérmino presentan menor agudeza visual a los 4 meses y menor desarrollo psicomotor a los 4, 8 y 18 meses de edad (Rioux *et al.*, 1995).

Un estudio descrito en varias artículos por Birch *et al.* mostró peores respuestas en los electrorretinogramas de los bastones a las 36 semanas y peor agudeza visual preferencial y potenciales visuales evocados a las 57 semanas postconcepcionales, en recién nacidos de muy bajo peso alimentados con una fórmula que contenía 0.5% de 18:3n-3 en relación a los que recibieron leche materna o una fórmula suplementada con 0.35% de DHA procedente de aceites marinos (Uauy *et al.*, 1990; Birch *et al.*, 1992a; Birch *et al.*, 1992b). Además, estos autores destacaron que un aumento del 18:3n-3 (2.7%) en la fórmula no mejoraba la agudeza visual a las 57 semanas (Birch *et al.*, 1992b). Recientemente, Werkman y Carlson (1995) también han encontrado que un 0.1% de DHA puede mejorar la actividad visual en un grupo de niños pretérmino con respecto

a otro alimentado con dietas estándar conteniendo 1.5% y 2.5% del total de ácidos grasos como 18:3n-3.

Parece por tanto, que el 22:6n-3 es capaz de influir en la maduración de la retina y mejorar la agudeza visual en los niños pretérmino, aunque no existen resultados claros en cuanto a su influencia sobre el desarrollo mental. Así, Lucas *et al.* (1994) no encontraron diferencias en el índice psicomotor ni en el índice de desarrollo de Bayley relacionado con el aprendizaje del lenguaje a los 18 meses de edad entre niños prematuros alimentados con leche humana o con una fórmula estándar sin 20:4n-6 ó 22:6n-3. En cambio, Carlson y Wilson (1994) indicaron que los niños prematuros alimentados con una fórmula que contenía AGPI-CL de la serie n-3 presentaron mejor índice de desarrollo de Bayley.

En el caso de los recién nacidos a término se han encontrado resultados también contradictorios. Cuando estos neonatos fueron alimentados con una fórmula adaptada sin AGPI-CL (17.9% de 18:2n-6 y 2.1% de 18:3n-3), no presentaron diferencia alguna en la agudeza visual a los 3 ó a los 9 meses de edad con respecto a aquellos que recibieron leche humana (Innis *et al.*, 1994a; Innis *et al.*, 1994b), por lo que la agudeza visual no se relacionaría con la dieta o el 22:6n-3 de los lípidos sanguíneos en niños a término (Innis *et al.*, 1994b). Estos y otros autores obtuvieron también datos similares posteriormente (Innis *et al.*, 1995a; Innis *et al.*, 1995b; Friel *et al.*, 1995; Auestad *et al.*, 1995; Rioux *et al.*, 1995; Neuringer *et al.*, 1995; Hartmann y Neuringer, 1995).

Por el contrario, otros investigadores han observado menor agudeza y potencial visual evocado en niños a término alimentados con una fórmula sin suplementar en comparación con un grupo que recibió leche materna (Birch *et al.*, 1993; Makrides *et al.*, 1993; Makrides *et al.*, 1995a; Makrides *et al.*, 1995b; Carlson *et al.*, 1995; Jorgesen *et al.*, 1995; Gibson *et al.*, 1995). Cuando se suplementaban las fórmulas con 0.43% de 20:4n-6 y 0.10% de 22:6n-3 mejoraba la agudeza visual a los 2 meses de edad presentando respuestas similares a las de un grupo de leche humana (Carlson *et al.*, 1995). En cambio para Auestad *et al.* (1995) y Neuringer *et al.* (1995) suplementar las fórmulas con AA y DHA no suponía una mejora de la agudeza visual con respecto a los niños que habían recibido únicamente 18:2n-6 y 18:3n-3.

La causa de las discrepancias de estos estudios es desconocida, aunque podría explicarse en base a la diferente metodología empleada por los distintos grupos de investigación en la medida de la agudeza visual o al diferente contenido en ácidos grasos en las fórmulas. En este sentido, Innis (1994) indicó que la ausencia de diferencias entre los grupos de alimentación era debida a una elevada ingesta de ácido linolénico. Así, un 1% de la energía como 18:3n-3 en la dieta podría ser suficiente para mantener una adecuada acumulación de 22:6n-3 en la retina y favorecer un desarrollo normal de la agudeza visual en niños a término sanos.

Por lo que respecta a los estudios cognitivos también se han encontrado discrepancias en la bibliografía. Un reciente estudio indica que no se han detectado diferencias en el índice de desarrollo mental y psicomotor de Bayley en los niños a término alimentados con fórmula, al pecho (Temboury *et al.*, 1994) o con una fórmula suplementada con AA y DHA (Janowsky *et al.*, 1995). Sin embargo, estos estudios contrastan con los resultados obtenidos por otros autores en los que la alimentación con leche humana o con una dieta conteniendo AGPI-CL (0.44% de AA y 0.30% de DHA) produjo un mejor índice del desarrollo mental en niños a término que cuando éstos fueron alimentados con una fórmula sin AGPI-CL (Agostoni *et al.*, 1995a; Agostoni *et al.*, 1995b) .

Recomendaciones actuales en ácidos grasos para las fórmulas infantiles

La mayor parte de las fórmulas europeas contienen ácido linoleico y α-linolénico en cantidades comparables a las presentes en la leche humana (Carrol, 1989; Koletzko y Bremer, 1989). Por el contrario, las fórmulas estándar no contienen cantidades apreciables de AGPI-CL, aunque existen ya en el mercado fórmulas que los contienen procedentes de diferentes fuentes. En el resto de las fórmulas el DHA está casi ausente y sólo se encuentran pequeñas cantidades de AA aportado por la grasa láctea empleada en la preparación de las mismas.

En vista de la creciente información sobre la importancia de la composición lipídica de la dieta para el recién nacido, el Comité de Nutrición de la ESPGAN decidió en 1991 realizar unos comentarios sobre la composición lipídica de las fórmulas infantiles en Europa. Las líneas generales de este organismo sobre el contenido en AGE en todos los tipos de fórmulas incluyendo las fórmulas para recién nacidos de bajo peso y las de continuación, recomiendan que el contenido

en ácido linoleico esté comprendido entre 4.5-10.8% de la energía, estableciendo por primera vez un límite máximo para este ácido graso en las fórmulas e indicando los efectos nocivos de un contenido elevado de 18:2n-6 en la dieta de los lactantes. Otro aspecto importante tratado en este informe es la relación 18:2n-6/18:3n-3 de la que el Comité opina que debe ser del mismo orden que la presente en la mayor parte de las muestras de leche materna evitando valores extremos, por lo que establece un rango comprendido entre 5 y 15. El Comité también consideró que sería deseable enriquecer las fórmulas para recién nacidos de bajo peso con metabolitos de larga cadena del ácido linoleico y linolénico para proporcionar en las fórmulas niveles similares a los encontrados en la leche humana (AGPI n-6 1%, AGPI n-3 0.5% del total de ácidos grasos). El límite máximo establecido fue del 2% y 1% del total de ácidos grasos para los derivados de la serie n-6 y n-3 respectivamente, con objeto de evitar un aporte elevado de AGPI-CL que pudiera aumentar el riesgo de peroxidación y alterar la síntesis de eicosanoides. Además, se recomendó especialmente que dicha suplementación debía proporcionar un estado de AGPI-CL en los recién nacidos similar al que presentan al nacer o al de los niños alimentados con leche humana, indicando de forma expresa que no es aconsejable aportar sólo AGPI-CL n-3 con altas proporciones de EPA. Para los recién nacidos a término el Comité determinó que la adición de AGPI-CL a las fórmulas podría ser ventajosa pero que se necesitan más estudios para dar una recomendación definitiva. Por otro lado, indicó que no hay necesidad de añadir AGPI-CL preformados a las fórmulas de continuación.

Otros organismos tales como la FAO/WHO, ISSFAL o la Fundación Británica de Nutrición se han sumado a dichas recomendaciones (Bristish Nutrition Foundation, 1992; FAO/WHO, 1994; ISSFAL, 1994). Por otro lado, autores como Clandinin (1989) han indicado no sólo la conveniencia de suplementar la dieta del recién nacido con AGPI-CL, sino también han aportado recomendaciones expresas sobre los niveles de dichos compuestos en la fórmulas (20 y 22 n-6, 1%; 20 y 22 n-3 , 0.7%; 18:2n-6, 12% y 18:3n-3, 0.9%).

El Comité de Nutrición de la Sociedad Pediátrica de Canadá (NCCPS, 1995) se ha mostrado más conservador al expresar que aunque 20:4n-6 y 22:6n-3 son nutrientes esenciales durante el desarrollo postnatal temprano y se dispone de fuentes de estos ácidos grasos, su inocuidad y eficacia a largo plazo no ha sido demostrada por lo que no ve la necesidad de recomendar la inclusión de estos nutrientes en las fórmulas.

La Comisión de las Comunidades Europeas en su directiva 94/4/CE de 16 de Febrero de 1996 (CCE, 1996) en la que se modifica una Directiva anterior relativa a los preparados para lactantes de inicio y de continuación, indica que el contenido en ácido α-linolénico no será inferior a 50 mg/100 Kcal manteniendo una proporción entre el ácido linoleico y α-linolénico ni inferior a 5 ni superior a 15. Además, tomando como patrón las recomendaciones de la ESPGAN, especifica que podrán añadirse AGPI-CL (20 y 22 átomos de carbono) en cantidades no superiores al 1% del total de la materia grasa para los n-3 y 2% para los n-6 (1% para el AA). El EPA no podrá encontrarse en concentraciones superiores a las que presente el DHA.

Fuentes de ácidos grasos poliinsaturados para la suplementación de las fórmulas adaptadas

Uno de los problemas más importantes en la nutrición infantil es la fabricación de una fórmula adaptada con una composición en AGPI-CL semejante a la encontrada en leche humana. Una fórmula convencional se puede conseguir mezclando aceites vegetales como el aceite de girasol, soja, palma y coco con grasa animal de leche de vaca (Sawatzki *et al.*, 1993). La proporción de estos aceites en la fórmula adaptada variará en función de la composición en ácidos grasos deseada.

Los aceites de coco y de palma aportan ácidos grasos saturados, ácido oleico y pequeñas cantidades de AGE (Sawatzki, 1992). El ácido linoleico es aportado por aceites de semillas tales como girasol, maíz, soja, cártamo y colza. Si se pretende aumentar el contenido en ácido linolénico, se podrían utilizar los aceites de soja, colza o grosella (5.9-13.6%) (Sawatzki, 1992; Ponder *et al.*, 1992). Otros aceites como el de oliva, girasol alto oleico y canola aportan ácidos grasos monoinsaturados, aunque alguno de ellos puede contener ácido erúcico (22:1n-9) de conocida toxicidad. También, se puede utilizar la grasa de mantequilla como fuente de ácidos grasos principalmente saturados y monoinsaturados, aunque tiene el inconveniente de aportar un escaso contenido en AGE.

El resultado de esta mezcla de aceites es una fórmula adaptada con muy pocos AGPI-CL. Para cumplir las normas del ESPGAN sobre AGPI-CL se disponen de pocas materias primas y en la actualidad se investiga sobre nuevas alternativas. Una de las fuentes más conocidas es el

aceite de pescado como el arenque que contiene cantidades relativamente altas de AGPI-CL n-3 (DHA y EPA), pero no de la serie de n-6 (AA) (Ackman *et al.*, 1989). Además, el alto contenido en EPA parece ser el responsable de serios desequilibrios en niños pretérmino. La utilización de aceites de pescado exclusivamente en las fórmulas presenta como problema añadido el intenso olor, lo que incita a las madres al desuso de las mismas. El proceso de desodorización no es aconsejable debido a que produce la formación de ácidos grasos de isomería trans. La existencia de aceites de pescado con bajo contenido en EPA ha planteado una nueva alternativa para el uso de estos aceites en la alimentación de recién nacidos.

En contraste con los aceites de pescado, la grasa de órganos animales como la grasa de hígado de vaca o de cerdo muestran un alto contenido en AGPI-CL n-6, sobre todo de AA, pero casi sin AGPI-CL de la serie n-3 (Sawatzki *et al.*, 1993). Por consiguiente, el empleo de una combinación de grasa animal y de aceite de pescado podría dar lugar a una proporción de AGPI-CL equilibrada como en la leche humana. Desafortunadamente, los aceites de pescado son susceptibles a la oxidación y la grasa animal tiene el inconveniente de la existencia de contaminantes, fármacos, pesticidas e ingredientes tóxicos debido a la manipulación de los animales.

En la búsqueda de una alternativa, varios investigadores han encontrado que ciertas fracciones de los lípidos del huevo contienen una proporción importante de n-6 y n-3 (Sawatzki *et al.*, 1993). Además, la composición en AGPI-CL de la yema de huevo puede ser fácilmente modificada mediante manipulación de la dieta de las gallinas para obtener mayor proporción de derivados de una u otra serie (Jiang y Sim, 1992). Así, se puede preparar una mezcla de fosfolípidos de huevo junto con diferentes aceites vegetales y grasa de leche de vaca para conseguir un patrón de ácidos grasos similar a la leche humana con cierta estabilidad a la oxidación (Sawatzki *et al.*, 1993).

La biotecnología también ha podido utilizar algunos microorganismos como los hongos del género *Mortierella* en la producción de una fuente válida de AA o *Crypthecodinium cohnii*, de DHA. Sin embargo, estos hongos contienen niveles elevados de EPA y suelen ser tóxicos, lo que impide su utilización en las fórmulas (Sawatzki *et al.*, 1993). Existen además microalgas marinas que producen triglicéridos con AGPI de distinto grado de insaturación, pero tienen el

inconveniente de presentar un alto contenido en partículas orgánicas de carbono (Parrish, 1993). A pesar de ello, se han realizado estudios con aceites ricos en AA y DHA procedentes de algas obteniendo en las fórmulas niveles semejantes de AGPI-CL a los encontrados en el calostro humano (Carnielli *et al.*, 1994a). Estos estudios mostraron en niños de bajo peso que los AGPI-CL procedentes de dicha fuente se incorporaban a los fosfolípidos plasmáticos, sin aumentar los niveles de EPA, aunque sí descendían los del linoleico, en comparación con aquellos que fueron alimentados por sus propias madres.

Recientemente, también se han empleado los fosfolípidos de cerebro bovino (Bourre *et al.*, 1993) y de cerdo (Jiménez, 1992) como fuente alternativa de AGPI-CL. Los trabajos de Bourre *et al.* (1993) y Jiménez (1992) han confirmado la utilidad de estas fuentes para proporcionar derivados de ambas series destacando además una posible ventaja adicional al estar constituidos por fosfolípidos en lugar de triglicéridos. Además, los fosfolípidos de cerebro de cerdo poseen una alta estabilidad frente a la peroxidación debido a la presencia de plasmalógenos que confieren también elevada estabilidad a las membranas tisulares de los animales de experimentación que recibien este suplemento (Jiménez, 1992).

Otra fuente fosfolipídica de AGPI-CL es la placenta humana. Bayon *et al.* (1993) han estudiado su composición y la posibilidad de su extracción a gran escala, proceso que además permitiría obtener fracciones enriquecidas en derivados de la serie n-6 y n-3 por separado.

El enriquecimiento de las fórmulas infantiles con aceites vegetales con altos contenidos en 18:3n-6 y 18:4n-3, proporcionaría un mecanismo bioquímico útil para alcanzar niveles aceptables de ácidos grasos de 20 y 22 átomos de carbono en los tejidos al obviar el paso limitante de la delta-6 desaturasa (Huang *et al.*, 1991). Dicha posibilidad ha sido sólo aplicada en animales de experimentación y actualmente no existen resultados en recién nacidos que aconsejen este tipo de suplementación.

MATERIAL Y MÉTODOS

SUJETOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Sesenta y un neonatos recién nacidos de bajo peso que nacieron en el Hospital de Clínicas de Porto Alegre Río Grande do Sul (Brasil) fueron inicialmente considerados en el presente estudio, 22 de los cuales fueron excluídos del mismo por diversos motivos. Todos ellos eran recién nacidos pretérmino de peso pequeño o adecuado para la edad gestacional y capaces de iniciar la alimentación enteral antes del 5º día de vida.

Fueron excluídos del estudio aquellos niños con evidencia o riesgo de presentar una infección neonatal grave, enfermedad aguda o crónica, malformación congénita mayor, enterocolitis necrosante o cualquier otra enfermedad que interrumpiese o limitase la nutrición enteral durante al menos dos días. También se excluyeron los niños que recibieron dietas diferentes a las especificadas en el estudio.

El protocolo fue aceptado por el Comité de Etica del Hospital y antes de la inclusión del niño en el estudio se obtuvo el consentimiento de los padres una vez que se les informaba sobre el desarrollo del mismo y de los objetivos que se perseguían.

Los niños se dividieron en tres grupos de alimentación:

- Grupo alimentado con leche humana procedente de un banco de leche (LH, n=8).
- Grupo alimentado con una fórmula adaptada para recién nacidos de bajo peso (FA, n=15).
- Grupo alimentado con una fórmula adaptada suplementada con AGPI-CL de las series n-6 y n-3 procedentes de una fuente fosfolipídica de origen animal (FAP, n=14).

Las características en el momento del nacimiento de los recién nacidos incluídos en el estudio se recogen en la tabla 1. La edad gestacional fue calculada por el método de Ballard *et al.* (1979) y la estimación del peso en función de la edad gestacional se realizó mediante las tablas

de Denver (Lubchenco, 1983).

El seguimiento de los niños se realizó mientras estaban ingresados en el Hospital. El volumen de dieta ingerido, la tolerancia a la alimentación y el peso fueron monitorizados diariamente. Otros parámetros como la talla o perímetro cefálico fueron controlados semanalmente.

Se tomaron muestras de sangre el día de inicio de la alimentación con las dietas del estudio o en un periodo no superior a dos días después de haber iniciado la misma y a los 15, 30 y 45 días después de la primera muestra, momento en que se les daba el alta en el Hospital.

Tabla 1. *Características de los recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

	LH	FA	FAP
Edad Gestacional (semanas)	31.9 ± 2.3	32.1 ± 1.7	32.5 ± 1.4
Sexo M/F	6 / 2	8 / 7	10 / 4
Peso (gramos)	1328.8 ± 234.4	1364.6 ± 240.2	1282.0 ± 221.8
AEG/PEG	5 / 3	9 / 5	8 / 7
Talla (cm)	38.7 ± 3.2	39.6 ± 2.4	37.8 ± 2.4
Perímetro cefálico (cm)	27.2 ± 2.1	27.7 ± 1.7	26.4 ± 1.7
Inicio vía digestiva (días)	4 ± 2	3 ± 1	3 ± 2

Los valores se expresan como media ± SD. M/F: Masculino/Femenino. AEG: Adecuado para la edad gestacional. PEG: Pequeño para la edad gestacional.

Los niños fueron controlados tanto clínica como somatométricamente a lo largo del periodo de estudio. Hasta el día 30, el porcentaje de faltas de toma de muestras fue del 18%. A los 45 días el porcentaje de faltas fue muy alto, obteniéndose muestras sólo de tres niños en el grupo de LH, 5 en el grupo de FAP y 7 en el de FA, por lo que los resultados bioquímicos que se presentan en este trabajo incluyen sólo el seguimiento hasta los 30 días después de iniciarse la alimentación.

Cuando el nivel de hemoglobina en los recién nacidos disminuía hasta un valor inferior a 7 g/dl eran transfundidos con 10 ml/kg de un concentrado de hematíes del 60%. El número de niños que necesitaron transfusión fue de 7 en el grupo de LH, 9 en el de FAP y otros 9 en el de FA.

ALIMENTACIÓN

Las fórmulas infantiles fueron diseñadas especialmente para recién nacidos de bajo peso, siguiendo las recomendaciones de ESPGAN (1991) y fueron fabricadas por la empresa ABBOT LABORATORIES (Granada). El contenido en macronutrientes, vitaminas y minerales de ambas fórmulas se recogen en las tablas 2, 3 y 4.

Las dos fórmulas diluídas al 15% proporcionaban la misma energía, 80 kcal/100 ml y tenían el mismo contenido en proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales. Sólo se diferenciaban en la calidad de los lípidos y en un mayor contenido de vitamina E en la fórmula suplementada. Los lípidos de la fórmula estándar estaban constituídos por una mezcla de grasa láctea, grasa vegetal (oliva y soja) y triglicéridos de cadena media (MCT) en las proporciones 25, 57.5 y 17.8, respectivamente. En la fórmula suplementada con AGPI-CL un 8.3% de esta mezcla grasa era sustituida por un extracto de fosfolípidos de cerebro cuya composición lipídica y cuyo perfil en ácidos grasos se recogen en las tablas 5 y 6. El extracto fue obtenido mediante extracción con disolventes orgánicos de cerebros de cerdos y posterior liofilización. El uso de esta mezcla grasa condujo al perfil de ácidos grasos en la fórmula suplementada que figura en la tabla 7. En dicha tabla se incluye también el perfil de ácidos grasos de la fórmula sin suplementar.

Antes de iniciar la alimentación enteral, los recién nacidos recibieron entre 60 y 90 ml/kg/día de una solución de glucosa al 10% vía parenteral. Ese volumen fue aumentado en unos 10 ml/kg/día a partir del primer día de edad, momento en que pasaron a recibir 3 mEq/kg/día de sodio y 2 mEq/kg/día de potasio. Con 2 días de vida, se añadieron 1 ó 2 mEq/kg/día de calcio. Esta suplementación se suspendió cuando el niño pretérmino recibía, al menos, 100 ml/kg/día por vía digestiva.

Tabla 2. *Composición de las fórmulas adaptadas utilizadas en el estudio.*

	g por 100
Humedad	2.3
Proteínas	15.0
Carbohidratos	51.4
Grasas	28.0
Valor calórico (kcal/100 g)	521

Tabla 3. *Contenido en vitaminas de las fórmulas adaptadas utilizadas en el estudio.*

	por 100 g
Vitamina A (µg)	550
Vitamina D_3 (µg)	15
Vitamina E (mg)	6.0 / 7.4*
Vitamina $K_{1\ (\mu g)}$	60
Vitamina B_1 (mg)	0.4
Vitamina B_2 (mg)	0.45
Vitamina B_{12} (µg)	1.1
Vitamina C (mg)	100
Niacina (mg)	6.7
Pantotenato cálcico (mg)	5.5
Biotina (µg)	15
Acido fólico (µg)	350

*: Valor en la fórmula adaptada suplementada con AGPI-CL.

Tabla 4. *Contenido en minerales de las fórmulas empleadas en el estudio.*

	mg por 100 g
Sodio	270
Potasio	610
Calcio	625
Magnesio	34
Cloro	369
Fósforo	390
Hierro	10.7
Cinc	2.7
Calcio/Fósforo	1.6

Tabla 5. *Composición lipídica de la fuente de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.*

	g por 100 g
Gangliósidos	4.6
Lisofosfatidilcolina	0.6
Esfingomielinas	11.4
Lecitina	27.4
Fosfatidilinositol	3.3
Fosfatidilserina	14.5
Fosfatidiletanolamina y plasmalógenos	21.0
Sulfátidos	5.1
Cerebrósidos	6.0
Colesterol	5.5

Tabla 6. *Composición en ácidos grasos de la fuente de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.*

10:0	0.27
14:0	0.25
16:0	12.38
18:0	18.92
16:1n-7	0.56
16:1n-9	0.48
18:1n-7	5.69
18:1n-9	17.67
18:2n-6	0.52
18:3n-3	0.85
20:2n-6	0.16
20:3n-6	0.49
20:4n-6	7.04
22:4n-6	3.06
22:5n-6	2.35
22:5n-3	0.39
22:6n-3	5.67

Los resultados se expresan como porcentajes del total de ácidos grasos.

Los niños recibieron leche humana procedente de un banco de leche cuando en éste existía cantidad suficiente de la misma para completar el estudio, aproximadamente 6 litros. Los niños alimentados con leche humana recibieron un suplemento proteico y mineral cuya composición se recoge en la tabla 8. La cantidad recibida de este suplemento fue de 1.495 g/5 kcal/50 ml. Si no era posible la alimentación con leche humana los niños eran distribuidos al azar entre las dos fórmulas del estudio. La vía digestiva se inició con 2-4 ml por toma cada 2 horas y, en caso de no existir residuo, se incrementaron 2 ml en las siguientes tomas hasta alcanzar 10 ml. Cuando el niño pesaba aproximadamente unos 1700 g, las tomas se espaciaban cada 3 horas. La preparación de las fórmulas se ajustó para que los niños recibieran una ingesta no superior a 120 kcal/kg/día y 3.6 g/kg/día de proteína.

Tabla 7. *Composición en ácidos grasos de las fórmulas empleadas en el estudio.*

	FA[a]	FAP[a]
	%	%
8:0	4.79 ± 1.09	3.04 ± 1.68
10:0	5.48 ± 1.37	3.65 ± 1.38
12:0	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01
14:0	0.68 ± 0.02	0.58 ± 0.01
16:0	15.16 ± 0.54	16.60 ± 0.94
18:0	6.11 ± 0.34	6.66 ± 0.44
16:1n-7	0.70 ± 0.01	0.66 ± 0.04
16:1n-9	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.17
18:1n-7	1.55 ± 0.08	1.55 ± 0.04
18:1n-9	41.37 ± 1.87	42.33 ± 2.33
18:2n-6	17.19 ± 0.47	17.01 ± 0.89
18:3n-3	1.62 ± 0.05	1.74 ± 0.06
20:2n-6	N.D.	0.18 ± 0.01
20:3n-6	N.D.	N.D.
20:4n-6	N.D.	0.34 ± 0.02
22:4n-6	N.D.	0.16 ± 0.02
22:5n-3	N.D.	N.D.
22:5n-6	N.D.	N.D.
22:6n-3	N.D.	0.23 ± 0.01

a: Los datos se expresan como media de 2 determinaciones ± SD. FA: Fórmula adaptada. FAP: Fórmula adaptada suplementada con AGPI-CL. N.D.: No detectado.

Tabla 8. *Composición del suplemento proteico y mineral.*

	g por 100 g
Lactoalbúmina	38.52
Maltodextrina	36.78
Caseinato cálcico	19.23
$CaHPO_4$	5.58

El tratamiento de la leche en el banco fue el siguiente: la leche humana era recogida con técnicas asépticas e inmediatamente pasteurizada a 63.5°C durante 30 minutos. Se extraía una muestra para realizar un examen bacteriológico y se congelaba a -4°C en frascos individuales. En caso de no ser utilizada se volvía a pasteurizar cada 2 semanas. Al utilizar la leche se descongelaba en un baño a unos 40°C y se daba una toma cada 2 ó 3 horas, según prescripción médica.

A partir de los 10 días de vida, todos los niños recibieron 1000 U de vitamina A, 400 U de vitamina D y 50 mg de vitamina C, diariamente (Trivisol^R, Bristol-Mayer).

PRODUCTOS

Los reactivos generales procedían de las firmas comerciales PANREAC (ESPAÑA), MERCK (ALEMANIA) y SIGMA (USA).

Para los distintos análisis cromatográficos, se utilizaron disolventes del alto grado de pureza suministrados por ROMIL (INGLATERRA) y distribuidos por TECKNOKROMA (ESPAÑA). En el caso de la HPTLC de los lípidos polares eritrocitarios, el cloroformo, metanol y etanol empleados fueron de la marca PANREAC (ESPAÑA).

Los patrones de los ésteres metílicos de los ácidos grasos usados en cromatografía gaseosa, así como los utilizados en cromatografía en capa fina fueron suministrados por SIGMA (USA).

El Silica Gel 60 G empleado en TLC de las fracciones plasmáticas era de MERCK (ALEMANIA). Las placas empleadas en TLC de las fracciones eritrocitarias fueron suministradas por SIGMA (USA). Las placas para HPTLC procedían de la casa MERCK (ALEMANIA).

En la determinación de colesterol, se utilizó un kit enzimático de la casa BOEHRINGER MANNHEIM MBH (ALEMANIA). El patrón de colesterol y de triglicéridos fueron comprados a RANDOX Laboratories Limited (IRLANDA).

Los gases de gran pureza, Nitrógeno e Hidrógeno, empleados en la cromatografía de gas-líquido fueron suministrados por Carburos Metálicos S.A. (ESPAÑA).

APARATOS

Para la separación del plasma así como los lavados previos de los eritrocitos con tampones y las posteriores extracciones de los mismos se utilizó una centrífuga de mesa BECKMAN CS-6R (USA).

Para la medida y ajuste del pH de los tampones se utilizó un pHmetro ORION RESEARCH (USA).

Tanto el agitador de tubos como el homogenizador mecánico para la obtención del extracto de cerebro fueron de la casa HEIDOLPH (ALEMANIA).

El dispositivo extensor utilizado para la fabricación de las placas era SHANDON-UNOPLAN con un extensor DESAGA con capacidad para regular el espesor de la capa adsorbente. Las placas fueron activadas en una estufa HERAEUS (ESPAÑA). Para el revelado de las placas con iodo se utilizó una campana saturada con vapores de iodo y para el revelado con acetato de cobre se empleó un horno de la marca SELECTA (ESPAÑA) con temperatura regulable y capaz de alcanzar más de 180°C.

Las campanas de desarrollo eran de vidrio de dimensiones 30x30x10 cm para las placas de TLC y 30x14x10 cm para las de HPTLC provistas de tapadera de vidrio con ajuste.

Para la evaporación de los disolventes e incubación de las muestras en agitación se utilizó un baño SELECTA Unitronic 320-OR.

Las medidas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro PERKIN-ELMER modelo Lambda 2 (ALEMANIA). La medida de fracciones por fotodensitometría se hizo en un fotodensitómetro de la marca SHIMADZU CS-9000 (JAPON).

La cromatografía de gas-líquido se realizó en un cromatógrafo de gases HEWLETT-PACKARD 5890A (USA), equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar SP-2330 de 60 m de longitud, 0.32mm de diámetro interno y 0.20 µm de espesor de la fase estacionaria de biscianopropilfenil polisiloxano, de la casa SUPELCO (USA), suministrada por TECKNOKROMA (ESPAÑA). El cromatógrafo también estaba provisto de un inyector automático HEWLETT-PACKARD 7673A (USA) y controlado por un programa informático HP 3365 Series II ChemStation de la misma firma.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa informático BMDP versión PC90 de la firma BMDP Statistical Software (IRLANDA) en un ordenador IBM AT con microprocesador 80286 y con coprocesador matemático.

METODOS ANALITICOS

Toma de muestras

La sangre se extrajo por punción de la vena radial y se pasó a un tubo cerrado en frío con EDTA tripotásico para evitar la coagulación. El volumen de sangre obtenido en cada extracción fue de 2-3 ml, aproximadamente.

Separación del plasma

Las muestras de sangre se centrifugaron a 1500 *g* durante 15 minutos para separar el plasma de las células sanguíneas (fase inferior). El plasma se retiró y se congeló a -20°C en varias alícuotas hasta su posterior análisis.

Extracción lipídica de los eritrocitos

Una vez obtenido el plasma, se eliminaron los leucocitos y los restos plasmáticos mediante 3 lavados con tampón Tris isotónico 0.172 M pH=7.6 y posterior centrifugación según el método de Steck y Kant (1973). El volumen de tampón empleado en cada lavado fue aproximadamente el doble del volumen de la muestra de partida. Los leucocitos que quedaban en la parte superior de las células sanguíneas se retiraron junto con el sobrenadante en cada lavado. La extracción lipídica de las células rojas se realizó con cloroformo-metanol siguiendo el método de Bligh y Dyer (1959):

1) Las células se añadieron a 4.5 ml de una solución de cloroformo-metanol 1:2 con BHT como antioxidante al 0.025 %. Las muestras se agitaron 3-4 veces y se guardaron a -20°C hasta su posterior envío desde el Hospital a nuestro Laboratorio con nieve carbónica.
2) Las muestras se agitaron 3-4 veces cada media hora durante 4 horas a 4°C, cuidando que el precipitado no se quedara pegado a la pared del tubo. Posteriormente, se centrifugaron a 1500 *g* durante 15 minutos a la misma temperatura.
3) El sobrenadante se recogió mediante decantación en tubos de 15 ml. El precipitado de eritrocitos se volvió a extraer con otros 4.5 ml de la solución extractora inicial, y además se le añadió 1 ml de agua desionizada. Se volvió a centrifugar en las mismas condiciones y el nuevo sobrenadante obtenido se mezcló con el anterior.
4) A continuación se añadieron 2.5 ml de cloroformo y 2.5 ml de agua desionizada. Se agitó y se centrifugó separándose 2 fases, una inferior clorofórmica y otra superior que contenía metanol y agua. En la fase de cloroformo se encontraba el

extracto lipídico el cual fue retirado con una pipeta Pasteur y evaporado a sequedad en corriente de nitrógeno en un baño a 30°C. A continuación, se congeló a -20°C hasta su posterior análisis.

Extracción de los lípidos plasmáticos

El método empleado para la extracción de los lípidos plasmáticos fue el de Kolarovic y Fournier (1986). A 300-500 µl de plasma se les añadió el mismo volumen de agua desionizada y 3 ml de hexano:2-propanol en proporción 3:2. Las muestras se agitaron y se centrifugaron durante 15 minutos a 1500 *g* a 4°C, obteniéndose 3 fases: un precipitado de proteínas, una fase intermedia acuosa y otra superior de hexano, la cual se retiró a otro tubo. La fase acuosa y el precipitado de proteínas fueron reextraídos con 2 ml de la misma solución anterior volviéndose a agitar y a centrifugar en las mismas condiciones. La fase de hexano se retiró y se mezcló con la fase anterior llevándose a sequedad en corriente de nitrógeno. Las muestras se congelaron a -20°C hasta su análisis.

El precipitado de proteínas y la fase acuosa se llevaron a sequedad para cuantificar el contenido proteico del plasma.

Determinación de la capacidad antioxidante del plasma

La capacidad antioxidante del plasma se determinó mediante el método de Cañas *et al.* (1991) modificado. Este método se basa en la capacidad que tiene el plasma de evitar la formación de peróxidos lipídicos a partir de un sustrato fácilmente oxidable.

Se utilizó un homogenado de cerebro de cerdo como sustrato. Se homogeneizaron 5 g de cerebro con 10 ml de tampón Tris 150 mM a pH=7.4 con la ayuda de un homogenizador mecánico. Después de centrifugar a 1500 *g* durante 10 minutos a 4°C, se retiró el sobrenadante y se despreció el precipitado. Tras sucesivas homogenizaciones se formó un "pool" de sustrato inducible. A continuación, se evaluó el contenido de proteínas por el método de Bradford (1976).

Por duplicado se preparó una muestra control conteniendo un volumen de homogenado

de cerebro equivalente a 1.5 mg de proteína completado hasta 500 µl con tampón Tris 150 mM pH=7.4. La muestra problema se preparó también por duplicado añadiendo la misma cantidad de homogenado, 50 µl de plasma y tampón Tris hasta un volumen final de 500 µl. Muestras controles y problemas se incubaron a 37°C durante 15 minutos en un baño en agitación. Al cabo de ese tiempo, se paró la reacción con 25 µl de ácido tricloroacético al 100% y en frío. Después, se centrifugó a 1500 *g* durante 15 minutos y se tomaron 350 µl de sobrenadante.

Los peróxidos lipídicos formados en el periodo de incubación se pusieron de manifiesto tras reaccionar con 750 µl de ácido tiobarbitúrico al 0.67% en ácido tricloroacético al 5% en un baño a 100°C durante 10 minutos. Una vez enfriados los tubos, se midió la absorbancia de los controles y de las muestras a 533 nm frente a un blanco.

La capacidad antioxidante del plasma (CAP) se expresó como el porcentaje de inhibición de la formación de los peróxidos lipídicos del sustrato inducible y se calculó mediante la fórmula, siendo *A* la absorbancia medida:

$$C.A.P. = 100 - \frac{A_{muestra}}{A_{control}} x100$$

Análisis de las fracciones lipídicas plasmáticas y eritrocitarias por cromatografía en capa fina de alta resolución

a) *Activación de las placas*

Para analizar el contenido de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos plasmáticos, así como los distintos fosfolípidos eritrocitarios, se empleó la cromatografía en capa fina de alta resolución. Para ello, se utilizaron unas placas de 10x10 cm con Silica Gel como capa adsorbente de 0.20 mm de espesor. Las placas se lavaron con una solución de cloroformo-metanol-agua (60:35:8), y posteriormente se activaron en una estufa a 120°C durante 2 horas, tras lo cual se dejaron enfriar en un desecador.

b) *Aplicación de la muestra*

Con objeto de determinar los lípidos plasmáticos en valor absoluto, al extracto seco obtenido a partir del plasma se le adicionaron 20 µl de una solución de oleil alcohol en cloroformo (20 mg/ml), se llevó a sequedad y se resuspendió en 400 µl de cloroformo. Se depositaron en la placa 5 µl de este extracto, de modo que en cada calle existiesen 5 µg del estándar interno. En el caso de los eritrocitos, los tipos de fosfolípidos se determinaron de forma relativa, para lo cual el extracto de lípidos eritrocitarios se resuspendió en una cantidad de cloroformo entre 100 y 400 µl según su concentración y se aplicaron también 5 µl en cada calle de la placa. La aplicación de la muestra se realizó con la ayuda de una microjeringa en forma de una línea de puntos de 1 cm de longitud a 2 cm del borde inferior de la placa y 1.5 cm de los bordes laterales. Entre cada muestra se dejaba una separación de 0.5 cm.

c) *Desarrollo cromatográfico*

Se prepararon los siguientes líquidos de desarrollo: hexano-éter isopropílico-ácido acético (75:25:1.5) para las fracciones plasmáticas basado en el método de Skipski y Barclay (1969) con modificaciones y una mezcla de cloroformo-metanol-etanol-ácido acético-ácido fórmico-agua (35:13:1.5:6:2:1) para evaluar los distintos fosfolípidos de las membranas eritrocitarias según el método de Macala *et al.* (1983).

La campana del desarrollo cromatográfico se preparó con 100 ml de fase móvil y con dos tiras de papel de filtro pegadas a la pared para una mejor saturación de la misma. Dicha campana estaba completamente saturada al cabo de tres horas. La duración de la cromatografía fue de unos 40 minutos para los lípidos neutros (fracciones plasmáticas) y 50 minutos para los lípidos polares (lípidos eritrocitarios). Una vez desarrolladas las placas se dejaron secar en corriente de aire.

d) *Revelado de las placas*

Una vez secas, el revelado de las placas se realizó sumergiéndolas en una solución de acetato de cobre monohidratado al 3% en ácido ortofosfórico al 8% durante 1 minuto. Posteriormente, la placa se introdujo en un horno a 180°C durante 10 minutos.

Las distintas fracciones obtenidas y sus Rfs respectivos fueron los siguientes:

En el caso de los lípidos plasmáticos

Fracción lipídica	Rf
Esteres de colesterol	0.77
Triacilglicéridos	0.45
Oleil alcohol (Estándar interno)	0.12
Colesterol libre	0.07
Fosfolípidos	0.00

Para el caso de los fosfolípidos eritrocitarios

Fracción lipídica	Rf
Fosfatidiletanolamina	0.79
Fosfatidilserina	0.68
Fosfatidilinositol	0.59
Fosfatidilcolina	0.42
Esfingomielinas	0.23

e) *Cuantificación de los lípidos mediante fotodensitometría*

Las distintas bandas obtenidas fueron medidas en un fotodensitómetro a 350 nm operando en modo de reflexión. La integración de las áreas se efectuó en el integrador de datos del propio equipo. Para determinar las cantidades absolutas de los distintos lípidos plasmáticos se prepararon soluciones patrón conteniendo colesteril oleato, colesterol libre, trioleína y fosfatidiletanolamina procedente de cerebro en concentraciones crecientes: 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg de lípido/ml. Cada solución contenía además 1 mg/ml de oleil alcohol. Cinco microlitros de las soluciones patrón fueron aplicados en la placa y fueron tratados como se ha especificado anteriormente para las muestras. Las curvas patrón se construyeron relacionando la concentración del patrón con el cociente entre el área patrón y el área del estándar interno (oleil alcohol). El ajuste de las curvas y el cálculo de la concentración de cada lípido en la muestra fueron realizados mediante un programa matemático de ajuste de curvas.

Cromatografía en capa fina preparativa de lípidos plasmáticos y eritrocitarios

a) *Preparación de las placas*

Las fracciones lipídicas del plasma fueron separadas mediante TLC en placas preparadas en el laboratorio. Placas de vidrio de 5x20 cm se colocaron en el dispositivo extensor y se desengrasaron con acetona. La capa adsorbente era de Silica Gel y se preparó mezclando 45 g de este producto con 90 ml de agua sometiendo la mezcla a una agitación vigorosa durante 2 minutos con objeto que no se formaran grumos. La mezcla se extendió sobre las placas dejando 0.5 mm de espesor mediante un extensor graduado. Las placas se dejaron secar y para eliminar completamente el agua se metieron en una estufa a 120°C durante 2 horas. Transcurrido dicho tiempo se dejaron enfriar en un desecador hasta su utilización.

Para la separación de los fosfolípidos eritrocitarios, se emplearon las placas comerciales de 0.25 mm de espesor con objeto de conseguir una mejor resolución. Dichas placas se activaron como se ha descrito anteriormente.

b) *Aplicación de la muestra*

En el caso del plasma, el extracto lipídico se resuspendió en 50 µl de cloroformo y con la ayuda de una microjeringa se aplicaron en forma de pequeñas gotas en línea recta a 2.5 cm del borde inferior de la placa y a 1 cm de los laterales. En el caso de los glóbulos rojos, el extracto lipídico se resuspendió en 250 µl de cloroformo y se dividió en varias alícuotas:

- 50 µl, previa evaporación del cloroformo, se destinaron a la determinación de ácidos grasos totales.
- 50 µl para la cuantificación de fósforo.
- 20 µl para la determinación de colesterol.
- 80 µl para el análisis de las fracciones lipídicas.

Esta última alícuota se colocó en la placa como se ha especificado para el plasma.

c) *Desarrollo cromatográfico*

En el caso del plasma, se preparó un líquido de desarrollo formado por hexano-éter etílico-ácido acético en las proporciones 80:20:1 según el método descrito por Skipski y Barclay (1969).

Para separar los fosfolípidos eritrocitarios se siguió el método de Macala *et al* (1983), utilizando una mezcla de cloroformo-metanol-ácido acético-ácido fórmico-agua (35:15:6:2:1).

En ambos casos, la campana preparada con dos tiras de papel de filtro adheridas a sus paredes y con 200 ml de fase móvil se dejó saturar durante al menos una hora y media. Las placas se colocaron con el origen hacia abajo y después del desarrollo, cuya duración aproximada fue de 2 horas y media, se dejaron secar a temperatura ambiente.

d) *Revelado de las placas*

Una vez secas, las placas se introdujeron en una campana saturada con vapores de iodo. El revelado consistió en una coloración amarillenta fruto de la unión del iodo a los dobles enlaces de los ácidos grasos de las distintas fracciones. Cada fracción se identificó por su valor de Rf.

En el plasma, las fracciones identificadas y analizadas fueron:

Fracción lipídica	Rf
Esteres de colesterol	0.7
Triacilglicéridos	0.5
Fosfolípidos	0.0

En el caso de los fosfolípidos eritrocitarios:

Fracción lipídica	Rf
Fosfatidiletanolamina	0.80
Fosfatidilserina y fosfatidilinositol	0.61
Fosfatidilcolina	0.25
Esfingomielinas	0.20

Cada fracción se delimitó y se raspó, una vez evaporado el iodo, para su posterior análisis de ácidos grasos.

Transesterificación de los ácidos grasos

La determinación tanto de los ácidos grasos totales como de las fracciones plasmáticas y eritrocitarias se realizó mediante el método de Lepage y Roy (1986) por obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos mediante una reacción de transesterificación directa en un único paso para su posterior identificación y cuantificación por cromatografía de gas-líquido.

En el caso de los ácidos grasos totales del plasma se añadió ácido pentadecanoico como estándar interno de forma que tuviera una concentración final de 20 mg/dl de plasma. Cada muestra se colocó en un tubo Pyrex^{R} con tapón de rosca y cierre hermético y se añadieron 2 ml de una solución de benceno-metanol 1:4. Seguidamente, se adicionaron 200 µl de cloruro de acetilo en agitación suave como agente metilante. A continuación, se cerraron los tubos herméticamente y se introdujeron en un baño a ebullición durante una hora.

Al cabo de dicho tiempo, se dejaron enfriar los tubos en agua helada y se paralizó la reacción con 5 ml de K_2CO_3 al 6% con objeto de neutralizar el pH ácido. Posteriormente, se agitaron los tubos y se centrifugaron a 1500 *g* durante 15 minutos a 4°C para recoger el sobrenadante bencénico. Después, se congeló a -20°C hasta su análisis por cromatografía gaseosa.

Cromatografía de gas-líquido

Las muestras se descongelaron y se llevaron a sequedad en corriente de nitrógeno para

luego resuspenderlas en 100 µl de benceno. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron separados y detectados en un cromatógrafo de gases mediante una columna capilar y un detector de ionización de llama. El cromatógrafo estaba dotado de un inyector automático, el cual inyectaba 2 µl para los ácidos grasos totales o 4 µl en el caso de las fracciones. El sistema de inyección era para columnas capilares en la modalidad "spliter" y con una relación de "split" de 1:40.

Las condiciones de flujos de gases para el análisis cromatográfico fueron las siguientes:

- Nitrógeno gas portador: 1 ml/min.
- Nitrógeno gas auxiliar: 25 ml/min.
- Hidrógeno: 30 ml/min.
- Aire: 400 ml/min.

Manteniendo el inyector y el detector a 275°C, el programa de temperatura fue el siguiente:

- Temperatura inicial de 165°C, durante 3 minutos.
- Aumento de temperatura de 2°C/min hasta 195°C, que se mantuvo durante 2 minutos.
- Aumento de temperatura de 3°C/min hasta alcanzar 211°C, por un periodo de 6 minutos y medio.
- Finalmente, la temperatura descendió 15°C/min hasta el valor inicial de 165°C.

La duración total de cada análisis cromatográfico fue de 34.90 minutos. Los métodos de cuantificación empleados fueron de estándar interno para los ácidos grasos totales del plasma y de porcentaje normalizado en el resto de las fracciones. La identificación y el cálculo de los factores de respuesta se realizó por comparación con un patrón preparado a partir de soluciones estándares suministradas por SIGMA.

Determinación de colesterol y fósforo eritrocitarios

El extracto lipídico se resuspendió en 250 µl de cloroformo como se describió anteriormente y se tomaron alícuotas de 10 µl para colesterol y 25 µl para el fósforo por

duplicado.

a) *Determinación de colesterol libre*

El colesterol libre de las membranas eritrocitarias se cuantificó mediante un kit comercial (CHOD-PAP) de la empresa Boehringer-Mannheim, según el método de Kattermann *et al.* (1984). Este se basa en la formación de un compuesto coloreado con un máximo de absorción a 500 nm. La enzima colesterol oxidasa actúa sobre el colesterol, liberando delta-4-colestenona y peróxido de hidrógeno. Este último junto con 4-aminofenazona y fenol, por acción de la peroxidasa, forma 4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenazona que da coloración rosa.

Las alícuotas del extracto lipídico en cloroformo se evaporaron y se resuspendieron en 30 µl de 2-propanol. A continuación, se añadió 1 ml del reactivo del kit y tras 20 minutos a temperatura ambiente se midió en el espectrofotómetro.

Los valores de absorbancia se llevaron a una recta patrón de colesterol con 2.5, 5, 10, 15, 20 y 25 µl de una solución patrón en 2-propanol con una concentración de 2 mg/ml tratada de igual forma que las muestras.

b) *Determinación de fósforo lipídico*

Para la cuantificación de fósforo lipídico en los eritrocitos se empleó el método de Zolliner y Eberhagen (1965). Este método se fundamenta en la formación de un complejo de coordinación coloreado entre el grupo fosfato y los compuestos molibdato y vanadato en presencia de ácido nítrico, previa mineralización de la muestra mediante tratamiento con ácido perclórico y agua oxigenada.

Las alícuotas del extracto clorofórmico destinadas a este análisis se evaporaron y se añadieron 250 µl de ácido perclórico, para romper el enlace éster fosfórico de los fosfolípidos, y 100 µl de peróxido de hidrógeno al 30%, como agente oxidante. Después, se llevaron las muestras a un baño de arena a 220°C durante 30 minutos, para llevar a cabo la mineralización de la muestra.

Pasado dicho tiempo, se dejaron enfriar los tubos y se añadió 1 ml de agua y 1 ml de una mezcla de vanadato amónico 21 mM en ácido nítrico 0.28 N y molibdato amónico 40 mM en ácido sulfúrico 2.5 N en proporción 1:1. Los tubos se agitaron y se dejaron reposar durante 15 minutos, tiempo durante el cual se formó un complejo de color amarillo que se midió espectrofotométricamente a 405 nm. Los valores obtenidos se extrapolaron a una recta patrón de KH_2PO_4 con 10, 20, 40, 60, 80 y 100 µl de una solución madre 1 mM de fósforo, tratada de igual manera.

c) *Relación molar de colesterol-fósforo*

Teniendo en cuenta las cantidades tomadas de colesterol y fósforo, se calculó la relación molar de colesterol-fósforo mediante la siguiente expresión:

$$R = \frac{C.M_p}{P.M_c}$$

siendo C y P las cantidades de colesterol y fósforo referidas a un mismo volumen; M_p y M_c, los pesos moleculares del fosfato (PO_4^{3-}) y del colesterol, respectivamente.

TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

El análisis estadístico de los resultados se realizó con un programa informático *BMDP* versión PC-90.

Los efectos de la dieta y del tiempo de alimentación sobre las distintas variables consideradas fueron analizados mediante un análisis de la varianza de doble vía para medidas repetidas (programa 5V).

Se consideró significativo un nivel de $p<0.05$ para la vía dieta y la vía tiempo y $p<0.1$ para

la interacción dieta x tiempo. Cuando se encontró un efecto significativo se realizaron comparaciones múltiples entre las tres dietas para cada tiempo y/o entre los tres tiempos para cada dieta mediante el método de Bonferroni.

El estudio de los parámetros antropométricos, al alta y los incrementos de los mismos se realizó mediante un análisis de la varianza de 1 vía. La comparación entre variables no continuas tales como sexo, distribución entre adecuados y pequeños para la edad gestacional, etc se realizó mediante los correspondientes test no paramétricos.

RESULTADOS

EVOLUCION DE LOS PARAMETROS ANTROPOMETRICOS

La tabla 9 muestra los datos de la evolución de los parámetros antropométricos en los tres grupos de recién nacidos pretérmino considerados. En la tabla 10 se recogen los parámetros antropométricos en el momento del alta y los incrementos en dichos parámetros a lo largo del estudio, así como otras variables relacionadas: ingesta energética, número de días de hospitalización y número de días que tardaron en recuperar el peso al nacer. Como se puede observar no existieron diferencias significativas a lo largo del estudio en el peso, la talla y el perímetro cefálico. Sin embargo, el incremento de peso expresado en g/día fue superior en el grupo FAP existiendo diferencias significativas entre este grupo y el LH. El incremento de talla expresado en cm/sem tendió a ser superior también en este grupo (p=0.1085). No existieron diferencias entre grupos para el perímetro cefálico. El número de días que los niños tardaron en recuperar el peso al nacer fue ligeramente inferior en el grupo FAP aunque no llegaron a existir diferencias significativas entre los grupos. El peso registrado en el momento del alta del hospital fue significativamente inferior en el grupo LH con respecto a los otros dos.

Considerando sólo los niños de muy bajo peso al nacer (≤1500 g) quedarían 7 niños en el grupo de LH, 11 en el de FAP y 9 en el de FA. En las figuras 1 y 2 se muestran los parámetros antropométricos al nacer y los incrementos de peso talla y perímetro cefálico a lo largo del estudio para los recién nacidos de estas características. Las diferencias encontradas en el incremento de peso y talla entre los tres grupos se acentúan cuando se consideran sólo los niños de ≤1500 g, existiendo diferencias significativas entre el grupo FAP y FA para el incremento de peso (p=0.0458 t-Student) y para el incremento de talla (p=0.0308 t-Student).

Tabla 9. *Peso, talla y perímetro cefálico en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
Peso (g)	LH	1328.8 ± 234.4	1270.0 ± 218.2	1637.5 ± 234.4^{a1b1}
	FAP	1282.0 ± 221.8	1296.7 ± 245.5	1641.4 ± 278.2^{a2b2}
	FA	1364.6 ± 240.2	1380.7 ± 281.9	1709.3 ± 334.8^{a2b1}
Talla (cm)	LH	38.7 ± 3.2	41.2 ± 1.8	40.6 ± 3.2
	FAP	37.8 ± 2.4	39.3 ± 1.8	41.6 ± 1.1^{a3b1}
	FA	39.6 ± 1.8	41.0 ± 1.7	41.0 ± 2.3
Perímetro Cefálico (cm)	LH	27.2 ± 2.1	30.0 ± 1.7^{a1}	30.8 ± 2.4
	FAP	26.4 ± 1.7	28.2 ± 2.0^{a1}	30.0 ± 1.5^{a3}
	FA	27.7 ± 1.7	28.6 ± 1.4	29.8 ± 1.8^{a1}

Los resultados se expresan como media ± SD. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 10. *Parámetros antropométricos y variables relacionadas al alta de recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

	LH	FAP	FA	p
Peso al alta (g)	1907.5 ± 134.0	2036.7 ± 62.8^{c2}	2019.3 ± 91.9^{c1}	0.0087
Talla al alta (cm)	43.8 ± 1.0	43.1 ± 1.4	43.7 ± 1.4	0.5331
PC al alta (cm)	32.8 ± 0.6	32.2 ± 1.1	32.3 ± 1.1	0.6231
IP (g/día)	14.3 ± 3.2	18.2 ± 3.3^{c1}	16.4 ± 2.9	0.0261
IT (cm/sem)	0.68 ± 0.20	0.97 ± 0.35	0.75 ± 0.24	0.1085
IPC (cm/sem)	1.07 ± 0.31	1.06 ± 0.34	0.86 ± 0.34	0.3037
IE (Kcal/Kg/día)	105.8 ± 8.1	99.9 ± 11.7	96.0 ± 15.1	0.1468
Días de ingreso	40 ± 8	42 ± 13	40 ± 14	0.6216
DRPN	16 ± 5	14 ± 4	16 ± 6	0.2943

Los valores se expresan como media ± SD. PC: Perímetro cefálico. IP: Incremento de peso. IT: Incremento de talla. IPC: Incremento de perímetro cefálico. IE: Ingesta energética. DRPN: Días hasta recuperación del peso al nacimiento. N: LH=8, FAP=15, FA=14. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$.

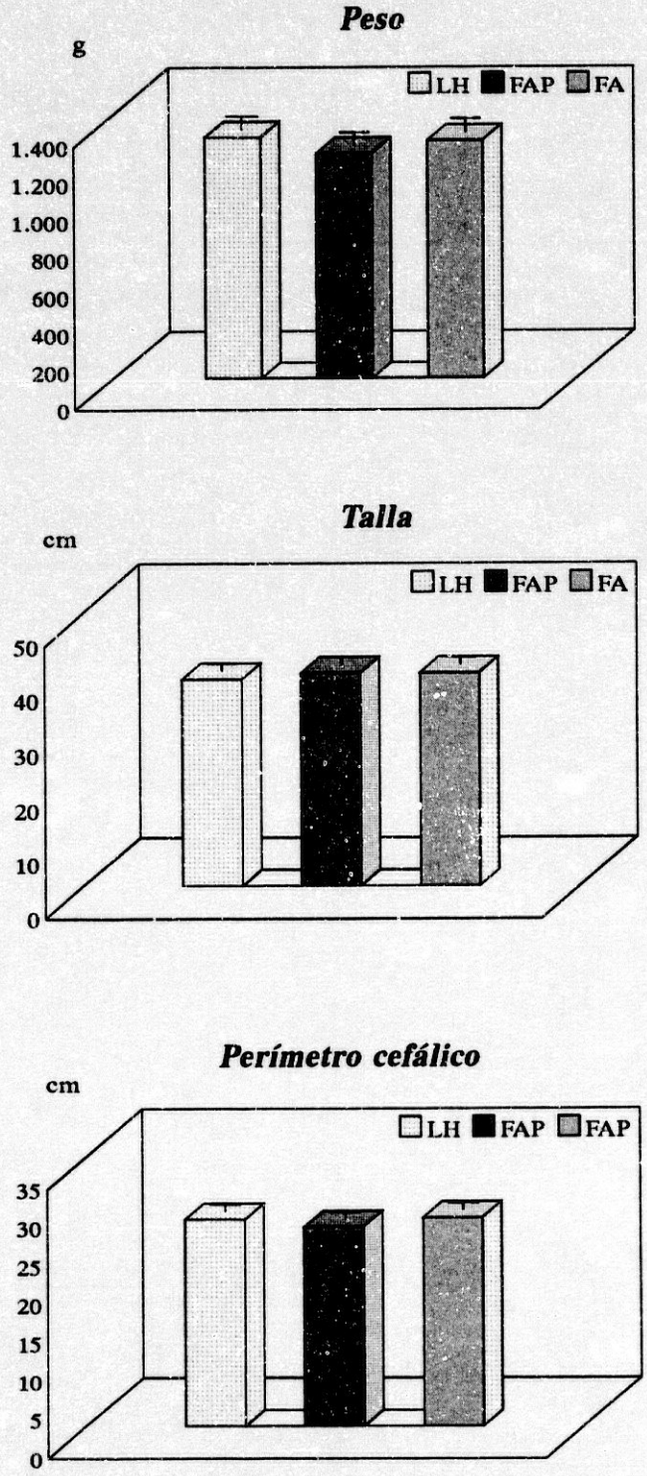


Figura 1. *Parámetros antropométricos en el momento del nacimiento en recién nacidos pretérmino de muy bajo peso (≤ 1500 g) alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 7, FAP = 11, FA = 9.*

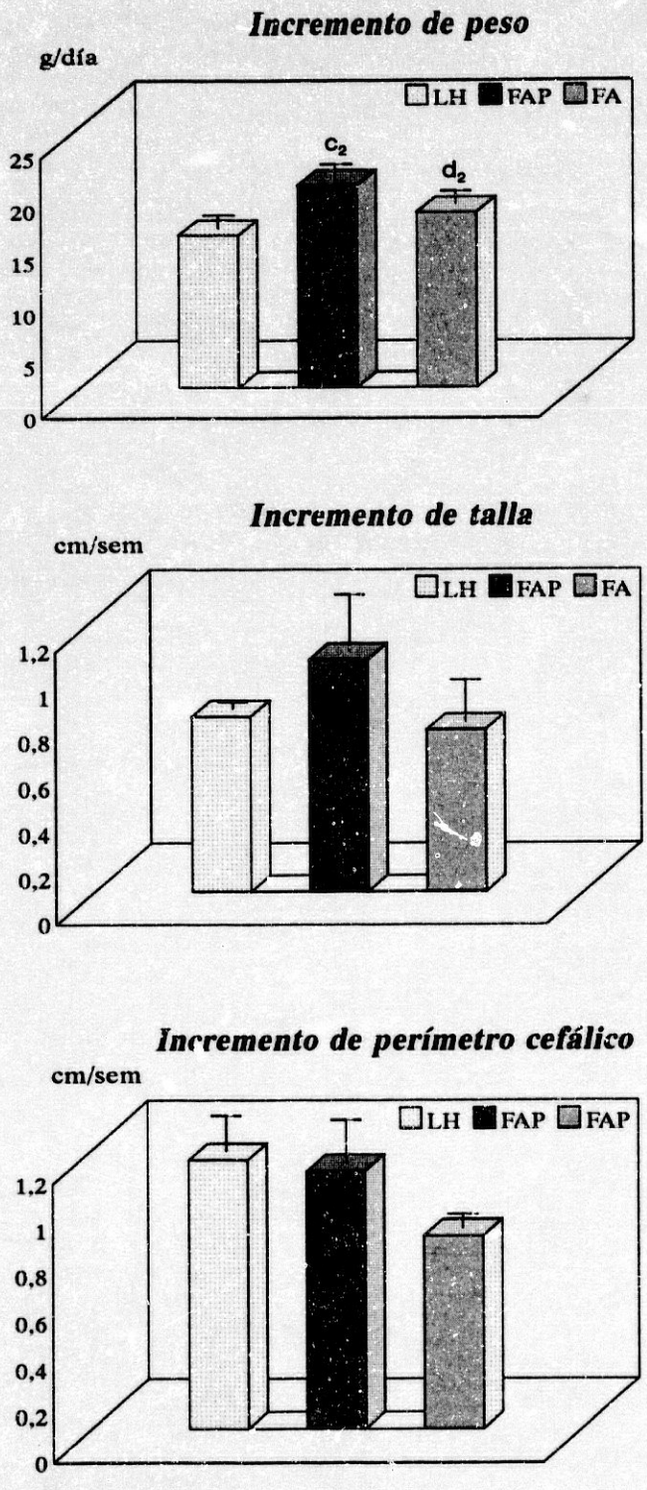


Figura 2. *Incremento de peso, talla y perímetro cefálico en recién nacidos pretérmino de muy bajo peso (≤ 1500 g) alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 7, FAP = 11, FA = 9. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 2: p < 0.01.*

COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE HUMANA

En la tabla 11 se recoge la composición en ácidos grasos de 16 muestras de leche humana procedentes del banco de leche del que fueron alimentados los recién nacidos del estudio. Ocho muestras eran a término y 8 pretérmino y había muestras tanto de calostro como de leche de transición (10 y 6 respectivamente). Como valores de referencia figura también la composición de la leche humana procedente del área geográfica de Granada obtenida por nuestro grupo de trabajo.

La leche de madres brasileñas presentó un menor contenido de ácido oleico y mayor contenido de los ácidos linoleico, α-linolénico y palmitoleico. Por el contrario, el grupo de Granada contenía mayor proporción de 12:0, 14:0 y 16:0 así como el isómero del 18:1n-9, el 18:1n-7. El porcentaje de 20:4n-6 y 22:6n-3 fue similar en ambos grupos.

En relación a la composición de las fórmulas empleadas en el estudio (ver tabla 7 en el apartado *Material y Métodos*) los niños alimentados con LH ingirieron más 12:0, 14:0 y 16:0 que los alimentados con las fórmulas y menos 8:0, 10:0 y 18:1n-9. El contenido en 18:3n-3 fue ligeramente superior en las fórmulas adaptadas. Los AGPI-CL detectados en la fórmula suplementada fueron 20:4n-6, 22:4n-6 y 22:6n-3, encontrándose en concentraciones inferiores a las presentes en leche humana especialmente el 20:4n-6. La relación entre los derivados de cadena larga de la serie n-6 y n-3 fue de aproximadamente 4:1 en la leche humana frente a 2:1 en la fórmula suplementada.

Tabla 11. *Composición en ácidos grasos de la leche humana de madres brasileñas de los niños incluidos en el estudio y de otras madres de niños pretérmino de nuestro medio.*

	Leche Humana Río Grande do Sul (Brasil)	Leche Humana Granada (España)
8:0	N.D.	N.D.
10:0	N.D.	0.08 ± 0.00
12:0	2.30 ± 0.14	3.14 ± 0.57
14:0	4.32 ± 0.14	6.70 ± 0.89
16:0	19.76 ± 0.15	21.05 ± 0.58
18:0	6.03 ± 0.06	5.69 ± 0.21
16:1n-7	2.11 ± 0.07	1.49 ± 0.10
16:1n-9	N.D.	0.76 ± 0.02
18:1n-7	N.D.	4.42 ± 0.25
18:1n-9	27.45 ± 0.24	38.70 ± 1.43
18:2n-6	20.92 ± 0.25	12.59 ± 1.10
18:3n-3	1.58 ± 0.04	0.57 ± 0.12
20:2n-6	N.D.	0.93 ± 0.11
20:3n-6	0.71 ± 0.05	0.73 ± 0.06
20:4n-6	0.97 ± 0.01	0.91 ± 0.12
22:4n-6	0.45 ± 0.01	0.45 ± 0.09
22:5n-3	0.32 ± 0.01	0.42 ± 0.10
22:5n-6	0.14 ± 0.01	N.D.
22:6n-3	0.34 ± 0.01	0.48 ± 0.05

Los datos se expresan como porcentaje del total de ácidos grasos como media ± SEM. N.D.: No detectado.

CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA PLASMÁTICA

Los datos sobre la composición lipídica del plasma se recogen en la tabla 12. Es de destacar la gran variabilidad encontrada debida a diferencias biológicas y al propio método de medida.

Tanto el contenido de triglicéridos como la concentración total de lípidos plasmáticos se incrementaron desde el inicio de la toma de muestras hasta el mes del estudio, llegando a ser significativo sólo en el grupo LH.

No existieron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de fosfolípidos, colesterol y triglicéridos entre los tres grupos de recién nacidos estudiados, aunque la cantidad de triglicéridos tendió a ser superior en el grupo LH.

Con objeto de disminuir la variabilidad producida por el uso de un estándar interno en un método que emplea una separación mediante HPTLC y fotodensitometría y tratar de aclarar y confirmar las tendencias observadas, se expresaron los resultados como porcentajes (tabla 13). Se confirmó la inexistencia de diferencias significativas entre los tres grupos estudiados.

Tabla 12. *Composición lipídica del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

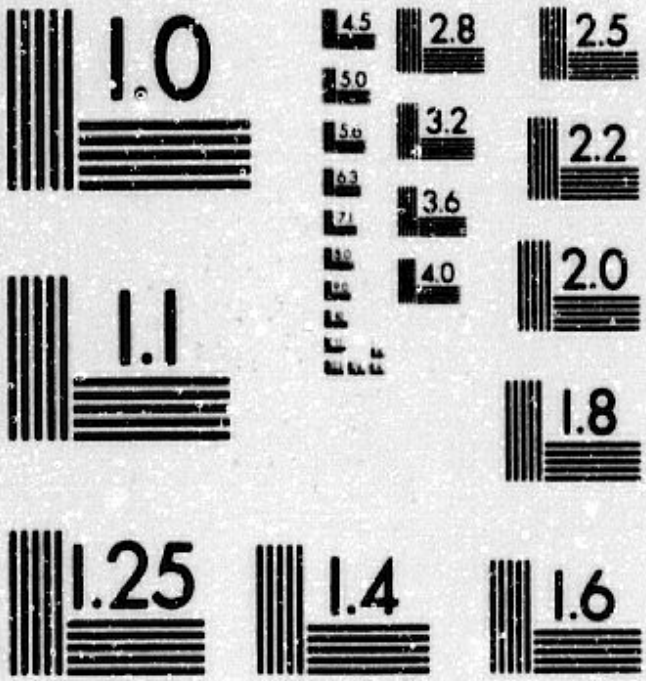
		Tiempo de alimentación		
Lípido	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	67.63 ± 5.05	78.53 ± 5.17	76.90 ± 7.22
Fosfolípidos	FAP	63.68 ± 6.08	68.59 ± 6.03	65.55 ± 3.26
	FA	70.41 ± 8.40	68.60 ± 4.63	63.40 ± 4.14
	LH	36.83 ± 5.82	67.61 ± 12.24	91.23 ± 12.37[a1]
Triglicéridos	FAP	40.32 ± 8.12	49.30 ± 4.20	51.94 ± 4.73
	FA	38.92 ± 8.02	63.60 ± 9.43	74.46 ± 10.16
Colesterol	LH	39.35 ± 1.38	42.78 ± 2.00	41.20 ± 2.42
libre	FAP	40.03 ± 3.68	43.54 ± 2.46	38.79 ± 2.06
	FA	45.60 ± 6.17	41.10 ± 2.94	35.20 ± 1.12
Colesterol	LH	84.56 ± 14.16	118.75 ± 10.50	112.53 ± 10.74
Esterificado	FAP	84.60 ± 7.02	108.80 ± 7.62	94.58 ± 5.26
	FA	108.62 ± 21.92	97.33 ± 7.93	101.98 ± 5.56
Colesterol	LH	123.90 ± 14.28	144.57 ± 18.92	137.65 ± 18.60
Total	FAP	114.05 ± 12.49	152.34 ± 9.26	133.37 ± 6.89
	FA	128.52 ± 19.48	138.43 ± 8.43	137.17 ± 6.13
	LH	202.24 ± 34.81	271.39 ± 27.78	292.75 ± 25.11
TOTAL	FAP	213.00 ± 17.54	259.51 ± 14.00	243.45 ± 10.70
	FA	200.16 ± 17.85	264.84 ± 17.04	260.81 ± 15.79

Los resultados se expresan en mg/dl como media ± SEM. TOTAL: Suma de los lípidos identificados. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$.

Tabla 13. *Composición lipídica del plasma expresada en porcentaje en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
Lípido	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	28.92 ± 3.12	23.73 ± 2.17	22.75 ± 1.77
Fosfolípidos	FAP	26.74 ± 2.34	25.09 ± 1.63	26.46 ± 1.01
	FA	26.81 ± 3.04	24.85 ± 1.43	23.26 ± 1.43
	LH	15.64 ± 2.58	22.01 ± 4.26	27.63 ± 3.29
Triglicéridos	FAP	18.80 ± 3.15	18.56 ± 1.57	21.11 ± 1.63
	FA	18.63 ± 4.11	22.54 ± 2.81	26.08 ± 2.54
Colesterol	LH	16.27 ± 0.42	13.18 ± 0.90	12.81 ± 0.75
libre	FAP	16.95 ± 1.16	15.82 ± 0.71	15.20 ± 0.44
	FA	18.08 ± 1.50	15.05 ± 0.17	13.09 ± 0.75
Colesterol	LH	39.17 ± 5.27	41.09 ± 1.58	36.82 ± 2.42
Esterificado	FAP	37.51 ± 2.43	40.53 ± 1.31	37.23 ± 1.08
	FA	36.48 ± 0.43	37.56 ± 2.10	37.57 ± 1.61
Colesterol	LH	66.58 ± 11.75	52.20 ± 4.06	46.20 ± 4.47
Total	FAP	52.89 ± 3.58	58.92 ± 2.24	54.84 ± 1.92
	FA	63.80 ± 8.10	52.82 ± 2.06	52.06 ± 2.31[a1]

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$.



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART
NATIONAL BUREAU OF STANDARDS
STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a
(ANSI and ISO TEST CHART No. 2)

Tabla 13. *Composición lipídica del plasma expresada en porcentaje en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
Lípido	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	28.92 ± 3.12	23.73 ± 2.17	22.75 ± 1.77
Fosfolípidos	FAP	26.74 ± 2.34	25.09 ± 1.63	26.46 ± 1.01
	FA	26.81 ± 3.04	24.85 ± 1.43	23.26 ± 1.43
	LH	15.64 ± 2.58	22.01 ± 4.26	27.63 ± 3.29
Triglicéridos	FAP	18.80 ± 3.15	18.56 ± 1.57	21.11 ± 1.63
	FA	18.63 ± 4.11	22.54 ± 2.81	26.08 ± 2.54
Colesterol	LH	16.27 ± 0.42	13.18 ± 0.90	12.81 ± 0.75
libre	FAP	16.95 ± 1.16	15.82 ± 0.71	15.20 ± 0.44
	FA	18.08 ± 1.50	15.05 ± 0.17	13.09 ± 0.75
Colesterol	LH	39.17 ± 5.27	41.09 ± 1.58	36.82 ± 2.42
Esterificado	FAP	37.51 ± 2.43	40.53 ± 1.31	37.23 ± 1.08
	FA	36.48 ± 0.43	37.56 ± 2.10	37.57 ± 1.61
Colesterol	LH	66.58 ± 11.75	52.20 ± 4.06	46.20 ± 4.47
Total	FAP	52.89 ± 3.58	58.92 ± 2.24	54.84 ± 1.92
	FA	63.80 ± 8.10	52.82 ± 2.06	52.06 ± 2.31[a1]

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$.

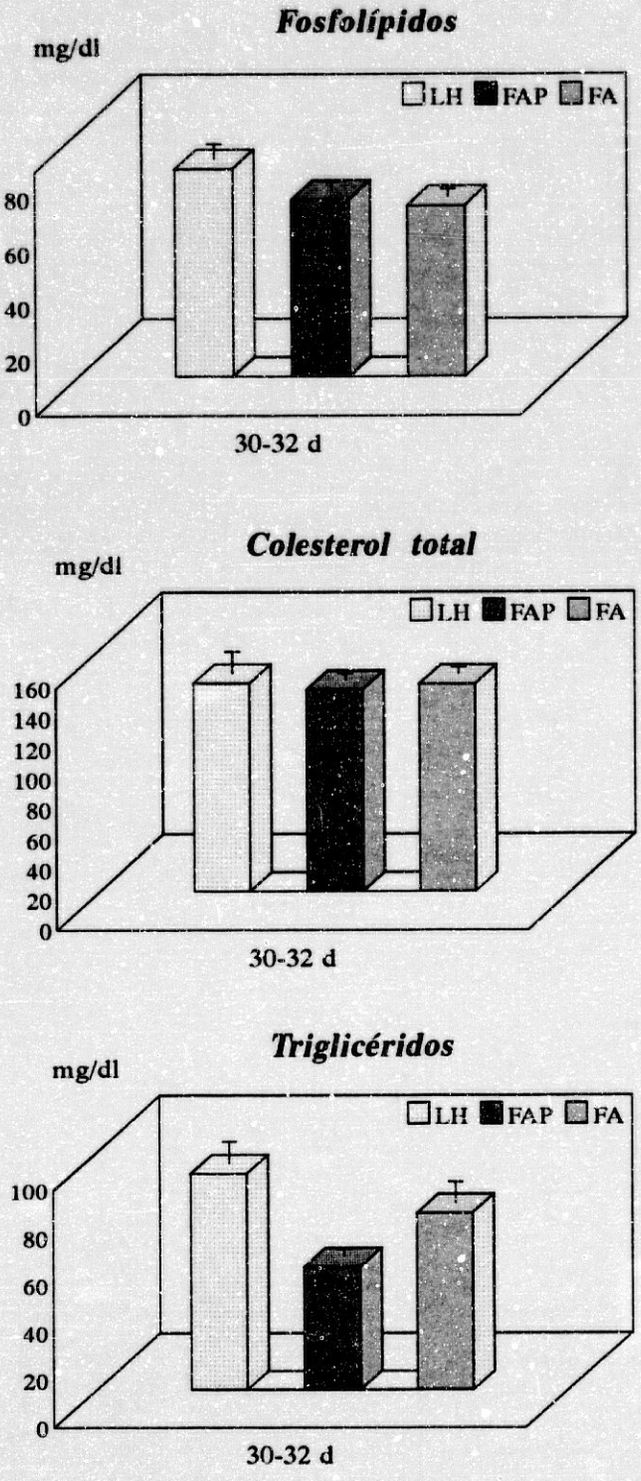


Figura 3. *Concentración de fosfolípidos, colesterol total y triglicéridos en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA) a los 30-32 días de alimentación. N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14.*

CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL PLASMA

Ácidos grasos totales plasmáticos

La composición en ácidos grasos del plasma se ha medido en valor absoluto mediante la adición de un estándar interno expresando los resultados tanto en mg/dl del plasma como en porcentaje relativo.

En las tablas 14, 15, 16 y 17 se encuentra el perfil en ácidos grasos de los lípidos totales del plasma expresados en valor absoluto. Los índices de interés relacionados con el metabolismo lipídico, tales como la suma de los ácidos grasos saturados, de los monoinsaturados, de los ácidos grasos mayores de 18 átomos de carbono de las series n-6 y n-3, de los dimetilacetales, del total de los ácidos grasos, la relación entre los ácidos grasos n-6 y n-3 mayores de 18 átomos de carbono, la relación entre 18:2n-6 y 20:4n-6 y entre 22:5n-3 y 22:6n-3 y el índice de insaturación se encuentran en las tablas 18A y 18B. Los valores correspondientes a los resultados expresados en porcentajes figuran en las tablas 19, 20, 21 y 22 y sus respectivos índices en la 23.

Las cantidades de ácidos grasos saturados de cadena más corta 12:0, 14:0 y 16:0 tendieron a incrementarse con el tiempo en el grupo LH mientras que en los grupos FAP y FA se mantuvieron casi constantes, resultando en un contenido significativamente superior en el grupo alimentado con leche humana desde los 15-17 días de iniciada la alimentación para el 14:0 y 16:0 y a los 30-32 días para el 12:0.

El ácido esteárico aumentó conforme avanzaba el estudio en los tres grupos considerados. Sin embargo, los niños alimentados con LH presentaron concentraciones significativamente superiores de este ácido graso desde los 15-17 días.

El contenido de ácido palmitoleico disminuyó significativamente en plasma al mes de iniciarse la alimentación para las tres dietas utilizadas, alcanzando valores que fueron la mitad de los obtenidos a los 0-2 días después del comienzo del estudio. El grupo LH tendió a presentar concentraciones más altas de este ácido graso siendo este hecho significativo a los 15-17 días con

respecto al grupo FAP.

La concentración total de ácido oleico en plasma se incrementó a lo largo del estudio aunque no existieron diferencias significativas. Asímismo, el grupo que recibió LH tendió a presentar un contenido inferior de este ácido graso en plasma.

En la tabla 16 se observa el perfil de ácidos grasos de la serie n-6. Podemos destacar el aumento de ácido linoleico en más de dos veces a los 15-17 días después de iniciarse la alimentación con respecto a la primera muestra, presentando el grupo de LH concentraciones superiores a los de los niños alimentados con fórmulas aunque no significativamente diferentes.

El perfil de 20:4n-6 evolucionó de forma distinta en los tres grupos estudiados después de iniciada la alimentación. En el grupo LH la concentración de 20:4n-6 se mantuvo a lo largo del estudio o incluso tendió a incrementarse. En el grupo FAP la concentración de 20:4n-6 disminuyó ligeramente, aunque no de forma significativa. En el grupo FA el contenido de éste disminuyó de forma drástica encontrándose ya diferencias significativas entre este grupo y el grupo LH a los 15-17 días.

La tabla 17 presenta los valores de los AGPI plasmáticos de la serie n-3. El contenido de ácido α-linolénico tendió a incrementar con el tiempo de alimentación en los tres grupos estudiados. Los valores del grupo LH tendieron a ser superiores a los de los grupos alimentados con fórmulas sin existir diferencias significativas.

El perfil de 20:5n-3 prácticamente no se modificó a lo largo del estudio, no existiendo diferencias significativas entre los tres grupos de recién nacidos desde el comienzo del estudio hasta el mes de iniciada la alimentación. Los cambios encontrados en las concentraciones de 22:6n-3 fueron similares a los de 20:4n-6, aunque en este caso también en el grupo de FAP el 22:6n-3 tendió a aumentar conforme avanzaba el estudio siguiendo un patrón similar al del grupo LH. Como consecuencia, al mes de iniciada la alimentación existieron diferencias significativas en la concentración de 22:6n-3 entre el grupo FA y el grupo FAP y entre el FA y el grupo LH.

Los niños alimentados con LH presentaron un perfil significativamente superior de 22:5n-

3 desde los 15-17 días, al de los niños alimentados con fórmulas adaptadas. El contenido de 20:3n-9 disminuyó conforme avanzaba el estudio en todos los grupos aunque se observó una tendencia a que los grupos que recibieron fórmulas adaptadas presentaran contenidos superiores de este ácido graso.

Las tablas 18A y 18B, que contienen los índices y relaciones entre ácidos grasos, resumen los principales cambios encontrados. La suma de ácidos grasos saturados fue significativamente superior en el grupo LH. En relación a los ácidos grasos de las series n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono, se encontraron cambios similares a los de sus máximos representantes 20:4n-6 y 22:6n-3. El grupo FA presentó una disminución de las concentraciones de estos ácidos grasos encontrándose diferencias significativas con el grupo de LH a lo largo de todo el estudio y con el grupo FAP a los 30-32 días. La relación entre los AGPI-CL de ambas series fue superior en el grupo FA siendo este hecho significativo a los 30-32 días con respecto al grupo LH.

La relación entre el 20:4n-6 y su precursor fue significativamente superior en el grupo FA que en los otros dos grupos de alimentación a los 30-32 días de estudio. La relación entre 22:5n-3 y 22:6n-3 fue significativamente superior en el grupo LH. Los niños alimentados con fórmula suplementada presentaron el valor más bajo para este índice a lo largo del estudio aunque no existieron diferencias significativas entre ambas fórmulas. El contenido de dimetilacetales aumentó con el tiempo en el grupo FAP siendo la concentración significativamente distinta a la de los otros grupos desde los 15-17 días. Tanto el índice de insaturación como la suma total de ácidos grasos tendió a ser superior en el grupo LH sin que existieran diferencias significativas entre grupos a excepción del grupo FAP con respecto al de LH a los 15-17 días.

Cuando los resultados se expresan en porcentajes (tablas 19-23) algunos de los cambios observados en relación al tiempo de alimentación para cada una de las dietas se ven afectados. Así, el aumento del 16:0 observado en valor absoluto se convierte en una disminución del porcentaje relativo del mismo. Por otro lado, prácticamente no se observó un efecto del tiempo de alimentación sobre el porcentaje de 18:0 cuando aumentó claramente su concentración. Como consecuencia, el porcentaje de ácidos grasos saturados disminuyó a lo largo del estudio.

Es interesante destacar que el porcentaje de 18:1n-9 disminuyó en el grupo alimentado

con LH mientras que se mantuvo en los otros dos grupos. Debido a esta diferente evolución, existieron diferencias significativas en el porcentaje de este ácido graso entre el grupo LH y los grupos FAP y FA. El porcentaje de 20:4n-6 y 22:6n-3 disminuyó con el tiempo en relación al valor encontrado al iniciar el estudio incluso en el grupo LH y FAP, de forma más drástica que cuando se expresaron los resultados en valor absoluto.

Los cambios observados en el resto de los ácidos grasos son similares a los descritos en valores absolutos muy especialmente los cambios debidos a la dieta. Las figuras 4, 5, 6 y 7 resumen los principales cambios observados en los contenidos de ácidos grasos plasmáticos.

Tabla 14. *Concentraciones de ácidos grasos saturados de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.52 ± 0.20	2.39 ± 1.17	2.46 ± 0.90
12:0	FAP	0.56 ± 0.23	0.40 ± 0.07	0.60 ± 0.09^{c1}
	FA	0.28 ± 0.06	0.44 ± 0.06	0.50 ± 0.07^{c1}
	LH	1.64 ± 0.37	5.97 ± 1.94	5.52 ± 1.63
14:0	FAP	1.58 ± 0.35	1.64 ± 0.15^{c2}	2.08 ± 0.30^{c2}
	FA	1.58 ± 0.32	1.98 ± 0.15^{c2}	1.94 ± 0.17^{c2}
	LH	41.47 ± 2.78	54.18 ± 4.87	52.40 ± 6.42
16:0	FAP	40.71 ± 4.14	35.03 ± 1.84^{c3}	38.81 ± 3.42
	FA	40.03 ± 4.91	39.71 ± 2.36^{c2}	37.57 ± 1.57^{c1}
	LH	13.81 ± 1.03	20.69 ± 1.29^{a1}	22.42 ± 2.13^{a2}
18:0	FAP	13.27 ± 1.09	16.22 ± 0.57^{c2}	19.22 ± 1.14^{a3}
	FA	12.85 ± 1.04	15.94 ± 0.68^{a1c2}	16.27 ± 0.58^{a1c2}
	LH	0.75 ± 0.08	0.79 ± 0.14	0.91 ± 0.09
20:0	FAP	0.89 ± 0.09	0.82 ± 0.03	1.05 ± 0.10
	FA	0.98 ± 0.05	0.95 ± 0.06	0.85 ± 0.06
	LH	1.16 ± 0.08	1.21 ± 0.20	1.17 ± 0.07
22:0	FAP	1.53 ± 0.09^{c1}	1.27 ± 0.05	1.26 ± 0.07
	FA	1.42 ± 0.09	1.38 ± 0.07	1.11 ± 0.09
	LH	1.09 ± 0.07	0.96 ± 0.16	0.96 ± 0.09
24:0	FAP	1.36 ± 0.09	0.91 ± 0.05^{a2}	0.98 ± 0.10^{a2}
	FA	1.19 ± 0.07	0.98 ± 0.06	0.79 ± 0.05^{a3}

Los resultados se expresan en mg/dl como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 15. *Concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	7.19 ± 0.57	5.67 ± 0.67	4.14 ± 0.54[a2]
16:1n-7	FAP	8.29 ± 1.34	3.05 ± 0.24[a3c2]	2.80 ± 0.38[a3]
	FA	8.10 ± 1.64	4.66 ± 0.56[a1]	3.32 ± 0.30[a2]
	LH	0.94 ± 0.10	1.09 ± 0.17	1.05 ± 0.18
16:1n-9	FAP	1.11 ± 0.11	0.95 ± 0.04	0.98 ± 0.05
	FA	1.17 ± 0.17	1.15 ± 0.06	1.08 ± 0.05
	LH	7.04 ± 0.77	5.76 ± 0.99	5.40 ± 0.66
18:1n-7	FAP	8.50 ± 1.12	5.08 ± 0.21[a2]	4.94 ± 0.37[a2]
	FA	7.70 ± 0.87	6.72 ± 1.39	5.04 ± 0.27[a1]
	LH	32.88 ± 2.78	49.64 ± 5.67	47.40 ± 9.42
18:1n-9	FAP	48.84 ± 7.95	47.71 ± 3.28	50.17 ± 3.39
	FA	43.49 ± 6.85	56.43 ± 3.44	52.07 ± 2.37
	LH	0.34 ± 0.05	0.71 ± 0.13	0.73 ± 0.24
20:1n-9	FAP	0.48 ± 0.11	0.54 ± 0.06	0.58 ± 0.05
	FA	0.36 ± 0.06	0.59 ± 0.05	0.59 ± 0.04
	LH	0.37 ± 0.00	0.58 ± 0.00	0.24 ± 0.00
22:1n-9	FAP	0.54 ± 0.18	0.41 ± 0.02	0.39 ± 0.01
	FA	0.34 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.01
	LH	2.36 ± 0.22	2.57 ± 0.19	2.43 ± 0.17
24:1n-9	FAP	2.93 ± 0.24	3.10 ± 0.22	3.59 ± 0.29
	FA	2.70 ± 0.25	3.33 ± 0.19	2.97 ± 0.28

Los resultados se expresan en mg/dl como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 16. *Concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	15.40 ± 2.97	52.01 ± 7.53^{a2}	57.61 ± 9.56^{a2}
18:2n-6	FAP	20.01 ± 4.06	40.40 ± 2.74^{a3}	48.79 ± 3.38^{a3}
	FA	15.69 ± 2.64	39.14 ± 2.26^{a3}	43.60 ± 2.36^{a3}
	LH	0.28 ± 0.04	0.45 ± 0.04^{a1}	0.34 ± 0.04
18:3n-6	FAP	0.37 ± 0.05	0.46 ± 0.04	0.41 ± 0.03
	FA	0.51 ± 0.23	0.67 ± 0.07^{c1d1}	0.53 ± 0.08
	LH	0.48 ± 0.09	1.23 ± 0.16	1.35 ± 0.28^{a1}
20:2n-6	FAP	0.46 ± 0.06	0.59 ± 0.08^{c3}	0.69 ± 0.11^{c1}
	FA	0.42 ± 0.06	0.58 ± 0.05^{c3}	0.73 ± 0.09^{c1}
	LH	2.70 ± 0.32	4.18 ± 0.40^{a1}	4.33 ± 0.30^{a1}
20:3n-6	FAP	2.78 ± 0.32	3.54 ± 0.15	3.64 ± 0.23^{a1}
	FA	2.42 ± 0.24	3.62 ± 0.13^{a3}	3.43 ± 0.24^{a2}
	LH	15.98 ± 1.57	18.64 ± 1.14	17.12 ± 1.18
20:4n-6	FAP	18.30 ± 1.16	14.49 ± 0.71^{c1}	15.06 ± 1.39
	FA	17.26 ± 0.91	11.66 ± 0.94^{a3c3}	10.03 ± 0.62^{a3c2d2}
	LH	0.85 ± 0.08	0.82 ± 0.11	0.77 ± 0.10
22:4n-6	FAP	1.01 ± 0.13	0.82 ± 0.22	0.76 ± 0.13
	FA	0.85 ± 0.07	0.49 ± 0.04	0.57 ± 0.16
	LH	1.24 ± 0.16	0.98 ± 0.18	0.89 ± 0.14
22:5n-6	FAP	1.48 ± 0.23	0.76 ± 0.10^{a1}	0.79 ± 0.09^{a1}
	FA	1.67 ± 0.22	0.73 ± 0.07^{a2}	0.81 ± 0.18^{a2}

Los resultados se expresan en mg/dl como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 17. *Concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.95 ± 0.04	1.70 ± 0.53	1.72 ± 0.68
18:3n-3	FAP	0.97 ± 0.47	0.82 ± 0.08	1.02 ± 0.09
	FA	0.65 ± 0.23	1.14 ± 0.11	1.20 ± 0.10
	LH	0.24 ± 0.00	0.68 ± 0.35	0.42 ± 0.08
20:5n-3	FAP	0.45 ± 0.05	0.52 ± 0.04	0.51 ± 0.03
	FA	0.39 ± 0.09	0.47 ± 0.04	0.44 ± 0.05
	LH	0.73 ± 0.04	1.43 ± 0.31	1.62 ± 0.20^{a1}
22:5n-3	FAP	0.82 ± 0.07	0.67 ± 0.12^{c1}	0.80 ± 0.19^{c2}
	FA	0.73 ± 0.07	0.70 ± 0.10^{c1}	0.75 ± 0.11^{c2}
	LH	2.90 ± 0.44	3.41 ± 0.32	3.68 ± 0.39
22:6n-3	FAP	3.58 ± 0.44	3.46 ± 0.19	3.83 ± 0.30
	FA	3.33 ± 0.24	2.08 ± 0.20^{a3c2d3}	2.15 ± 0.20^{a2c2d3}
	LH	1.22 ± 0.16	0.69 ± 0.12^{a1}	0.37 ± 0.09^{a2}
20:3n-9	FAP	1.42 ± 0.30	0.87 ± 0.09	0.73 ± 0.07^{a1}
	FA	1.29 ± 0.29	1.17 ± 0.11	0.81 ± 0.09

Los resultados se expresan en mg/dl como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 18A. *Indices de ácidos grasos de los lipidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	60.26 ± 4.14	87.22 ± 8.39	87.21 ± 10.91
SAT	FAP	59.74 ± 5.76	56.56 ± 2.58^{c3}	64.40 ± 5.08^{c1}
	FA	58.03 ± 6.31	61.84 ± 3.09^{c2}	59.77 ± 2.23^{c1}
	LH	50.66 ± 4.13	65.52 ± 6.95	61.19 ± 10.76
MONO	FAP	70.21 ± 9.76	61.35 ± 3.49	64.42 ± 3.90
	FA	63.62 ± 9.30	72.92 ± 4.36	65.27 ± 2.74
	LH	20.87 ± 1.96	25.84 ± 1.64	24.24 ± 1.60
n6>18C	FAP	23.35 ± 1.51	19.75 ± 0.99^{c2}	20.42 ± 1.77
	FA	22.26 ± 1.22	16.61 ± 1.11^{a2c3}	15.10 ± 0.90^{a3c2d1}
	LH	3.70 ± 0.49	5.36 ± 0.79	5.56 ± 0.60
n3>18C	FAP	4.51 ± 0.46	4.25 ± 0.25	4.85 ± 0.41
	FA	4.24 ± 0.31	3.14 ± 0.27^{a1c2}	3.01 ± 0.24^{a1c3d2}
	LH	5.93 ± 0.45	5.29 ± 0.54	4.57 ± 0.31
n6/n3>	FAP	5.44 ± 0.29	4.70 ± 0.17	4.27 ± 0.21^{a2}
	FA	5.37 ± 0.23	5.47 ± 0.23	5.15 ± 0.20^{c1}

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grasos monoinsaturados. n6>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n3>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los AGPI n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 18B. *Indices de ácidos grasos de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.15 ± 0.41	2.81 ± 0.48^{a1}	3.36 ± 0.82^{a2}
LA/AA	FAP	1.04 ± 0.14	2.80 ± 0.16^{a3}	3.74 ± 0.39^{a3}
	FA	0.91 ± 0.16	3.55 ± 0.27^{a3}	5.30 ± 0.45^{a3c1d2}
	LH	0.30 ± 0.07	0.40 ± 0.07	0.44 ± 0.02
DPA/DHA	FAP	0.26 ± 0.02	0.20 ± 0.05	0.20 ± 0.03^{c3}
	FA	0.23 ± 0.03	0.35 ± 0.06	0.38 ± 0.05^{d1}
	LH	0.75 ± 0.09	1.37 ± 0.33	1.32 ± 0.11
SDMA	FAP	1.36 ± 0.13^{c2}	3.75 ± 0.54^{c3}	5.23 ± 0.77^{a3c3}
	FA	0.29 ± 0.10^{c2}	1.68 ± 0.54^{d3}	1.08 ± 0.10^{d3}
	LH	188.41 ± 11.18	305.24 ± 27.16	305.23 ± 37.50
UNID	FAP	233.01 ± 25.40	248.14 ± 12.67	273.90 ± 18.60
	FA	213.10 ± 19.00	240.40 ± 12.40	233.42 ± 11.42
	LH	153.15 ± 9.88	239.59 ± 23.14	239.30 ± 32.63
SUMA	FAP	180.23 ± 20.71	185.39 ± 8.81^{c1}	206.58 ± 13.57
	FA	166.74 ± 19.10	197.01 ± 9.72	189.87 ± 7.75

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. DPA/DHA: Relación entre los ácidos grasos 22:5n-3 y 22:6n-3. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. SUMA: Suma total de los ácidos grasos. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 19. *Perfil de ácidos grasos saturados de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.29 ± 0.10	0.82 ± 0.34	0.88 ± 0.21
12:0	FAP	0.22 ± 0.05	0.20 ± 0.03	0.26 ± 0.03^{c2}
	FA	0.13 ± 0.02	0.22 ± 0.04	0.27 ± 0.03^{c2}
	LH	1.03 ± 0.17	2.17 ± 0.53	2.07 ± 0.28
14:0	FAP	0.82 ± 0.07	0.87 ± 0.05^{c2}	1.00 ± 0.14^{c3}
	FA	0.88 ± 0.06	1.00 ± 0.05^{c2}	1.02 ± 0.08^{c3}
	LH	27.15 ± 0.90	22.76 ± 0.54^{a3}	22.18 ± 0.65^{a3}
16:0	FAP	23.00 ± 0.70^{c2}	18.94 ± 0.47^{a3c3}	18.61 ± 0.50^{a3c3}
	FA	23.91 ± 0.41^{c1}	20.11 ± 0.61^{a3c1}	19.82 ± 0.41^{a3c1}
	LH	9.03 ± 0.35	8.96 ± 0.61	9.68 ± 0.47
18:0	FAP	7.63 ± 0.23^{c1}	8.82 ± 0.18^{a3}	9.38 ± 0.20^{a3}
	FA	8.00 ± 0.40	8.15 ± 0.25	8.63 ± 0.24
	LH	0.48 ± 0.06	0.34 ± 0.06	0.40 ± 0.02
20:0	FAP	0.56 ± 0.04	0.50 ± 0.02	0.52 ± 0.02
	FA	0.51 ± 0.06	0.48 ± 0.03	0.46 ± 0.02
	LH	0.78 ± 0.08	0.54 ± 0.12	0.58 ± 0.06
22:0	FAP	0.92 ± 0.06	0.70 ± 0.03^{a2}	0.73 ± 0.04^{a1}
	FA	0.91 ± 0.07	0.72 ± 0.04^{a1}	0.62 ± 0.04^{a2}
	LH	0.74 ± 0.08	0.46 ± 0.10	0.43 ± 0.05^{a1}
24:0	FAP	0.81 ± 0.05	0.50 ± 0.02^{a3}	0.47 ± 0.03^{a3}
	FA	0.76 ± 0.06	0.50 ± 0.03^{a3}	0.42 ± 0.02^{a3}

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 20. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	4.69 ± 0.25	2.40 ± 0.27^{a3}	1.79 ± 0.18^{a3}
16:1n-7	FAP	4.61 ± 0.51	1.67 ± 0.12^{a3}	1.31 ± 0.10^{a3}
	FA	4.64 ± 0.39	2.31 ± 0.19^{a3}	1.75 ± 0.14^{a3}
	LH	0.62 ± 0.06	0.45 ± 0.06	0.44 ± 0.03
16:1n-9	FAP	0.65 ± 0.05	0.52 ± 0.01^{a1}	0.48 ± 0.02^{a2}
	FA	0.71 ± 0.06	0.58 ± 0.02^{a1c2}	0.57 ± 0.02^{a1c2d1}
	LH	4.55 ± 0.34	2.32 ± 0.30^{a3}	2.32 ± 0.20^{a3}
18:1n-7	FAP	4.72 ± 0.37	2.79 ± 0.12^{a3}	2.39 ± 0.06^{a3}
	FA	4.81 ± 0.38	3.38 ± 0.49^{a1}	2.66 ± 0.10^{a3}
	LH	27.37 ± 0.98	20.53 ± 0.91	19.05 ± 1.26
18:1n-9	FAP	25.80 ± 1.18^{c1}	25.57 ± 0.78^{c3}	24.30 ± 0.77^{c3}
	FA	25.19 ± 0.99	28.47 ± 0.62^{a2c3}	27.44 ± 0.50^{c3}
	LH	0.20 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.26 ± 0.05
20:1n-9	FAP	0.22 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.28 ± 0.01
	FA	0.20 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.31 ± 0.02
	LH	0.25 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.05 ± 0.00
22:1n-9	FAP	0.26 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.01
	FA	0.22 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.18 ± 0.02
	LH	1.58 ± 0.17	1.18 ± 0.16	1.12 ± 0.12
24:1n-9	FAP	1.75 ± 0.14	1.70 ± 0.12	1.80 ± 0.17
	FA	1.69 ± 0.15	1.74 ± 0.14	1.57 ± 0.14

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 21. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	9.79 ± 1.27	21.16 ± 1.34^{a3}	23.74 ± 1.64^{a3}
18:2n-6	FAP	10.68 ± 1.00	21.56 ± 0.73^{a3}	23.56 ± 0.35^{a3}
	FA	9.13 ± 0.83	19.85 ± 0.70^{a3}	22.84 ± 0.43^{a3b2}
	LH	0.17 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.15 ± 0.02
18:3n-6	FAP	0.21 ± 0.02	0.25 ± 0.02	0.20 ± 0.02
	FA	0.25 ± 0.07	0.34 ± 0.03^{c2d1}	0.28 ± 0.04^{c1}
	LH	0.29 ± 0.04	0.51 ± 0.06^{a1}	0.54 ± 0.03^{a2}
20:2n-6	FAP	0.26 ± 0.03	0.31 ± 0.03^{c2}	0.32 ± 0.03^{c2}
	FA	0.25 ± 0.04	0.30 ± 0.03^{c2}	0.38 ± 0.04^{c1}
	LH	1.78 ± 0.08	1.86 ± 0.25	1.96 ± 0.20
20:3n-6	FAP	1.66 ± 0.23	1.94 ± 0.10	1.80 ± 0.10
	FA	1.53 ± 0.14	1.88 ± 0.10	1.81 ± 0.13
	LH	10.71 ± 1.15	8.19 ± 0.82	7.59 ± 0.59
20:4n-6	FAP	10.87 ± 0.65	7.89 ± 0.33^{a3}	7.26 ± 0.34^{a3}
	FA	11.16 ± 0.83	5.93 ± 0.39^{a3c1}	5.27 ± 0.23^{a3c3d3}
	LH	0.54 ± 0.06	0.34 ± 0.04^{a1}	0.33 ± 0.03^{a2}
22:4n-6	FAP	0.59 ± 0.08	0.41 ± 0.08	0.36 ± 0.05
	FA	0.54 ± 0.05	0.24 ± 0.02^{a2}	0.30 ± 0.08^{a1}
	LH	0.79 ± 0.09	0.41 ± 0.08^{a1}	0.41 ± 0.09^{a1}
22:5n-6	FAP	0.83 ± 0.08	0.39 ± 0.04^{a3}	0.35 ± 0.02^{a3}
	FA	1.06 ± 0.12	0.36 ± 0.04^{a3}	0.40 ± 0.08^{a3}

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 22. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.58 ± 0.07	0.62 ± 0.13	0.61 ± 0.14
18:3n-3	FAP	0.39 ± 0.11	0.43 ± 0.03	0.49 ± 0.03
	FA	0.33 ± 0.11	0.57 ± 0.05	0.63 ± 0.05
	LH	0.17 ± 0.01	0.33 ± 0.20	0.18 ± 0.04
20:5n-3	FAP	0.24 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.26 ± 0.02
	FA	0.20 ± 0.03	0.24 ± 0.02	0.23 ± 0.02
	LH	0.49 ± 0.04	0.61 ± 0.16	0.68 ± 0.04
22:5n-3	FAP	0.51 ± 0.04	0.35 ± 0.01	0.38 ± 0.06^{c2}
	FA	0.44 ± 0.03	0.35 ± 0.05	0.40 ± 0.06^{c2}
	LH	1.95 ± 0.28	1.47 ± 0.14	1.59 ± 0.14
22:6n-3	FAP	2.04 ± 0.13	1.87 ± 0.08^{c1}	1.85 ± 0.08
	FA	2.14 ± 0.18	1.05 ± 0.07^{a3c1d3}	1.12 ± 0.08^{a3c2d3}
	LH	0.79 ± 0.11	0.31 ± 0.07^{a2}	0.19 ± 0.06^{a2}
20:3n-9	FAP	0.79 ± 0.12	0.49 ± 0.06^{a1}	0.38 ± 0.04^{a2}
	FA	0.75 ± 0.10	0.61 ± 0.07	0.43 ± 0.05^{a1}

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 23. *Indices de ácidos grasos de los lípidos totales del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
Indice	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	39.42 ± 1.19	36.50 ± 0.88	36.77 ± 0.65
SAT	FAP	33.85 ± 0.79^{c3}	30.61 ± 0.56^{a2c3}	31.04 ± 0.75^{a1c3}
	FA	35.00 ± 0.42^{c2}	31.46 ± 0.64^{a3c3}	31.60 ± 0.58^{a3c3}
	LH	32.96 ± 1.54	27.22 ± 1.08^{a1}	24.98 ± 1.35^{a2}
MONO	FAP	37.74 ± 1.36	33.07 ± 0.77^{a2c3}	31.30 ± 0.69^{a2c3}
	FA	37.26 ± 1.31	36.79 ± 0.66^{c3d2}	34.41 ± 0.40^{c3d2}
	LH	13.89 ± 1.30	11.31 ± 1.10	10.73 ± 0.77
n6>18	FAP	13.82 ± 0.79	10.71 ± 0.38^{a2}	9.86 ± 0.41^{a3}
	FA	14.32 ± 1.02	8.48 ± 0.48^{a3c1d1}	7.93 ± 0.35^{a3c2d1}
	LH	2.48 ± 0.33	2.32 ± 0.43	2.38 ± 0.18
n3>18	FAP	2.60 ± 0.18	2.30 ± 0.10	2.36 ± 0.12
	FA	2.67 ± 0.16	1.58 ± 0.10^{a3c1d1}	1.58 ± 0.10^{a3c3cd3}
	LH	0.50 ± 0.07	0.61 ± 0.19	0.58 ± 0.05
SDMA	FAP	0.86 ± 0.10	2.33 ± 0.36^{c3}	2.79 ± 0.47^{a2c2}
	FA	0.76 ± 0.10	0.60 ± 0.06^{d2}	0.59 ± 0.06^{d3}
	LH	123.72 ± 4.61	128.46 ± 4.57	128.70 ± 2.78
UNID	FAP	130.90 ± 3.14	133.66 ± 2.01	132.60 ± 2.19
	FA	130.61 ± 3.20	121.87 ± 2.18	122.52 ± 2.01

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grasos monoinsaturados. n6>18: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n3>18: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los AGPI n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

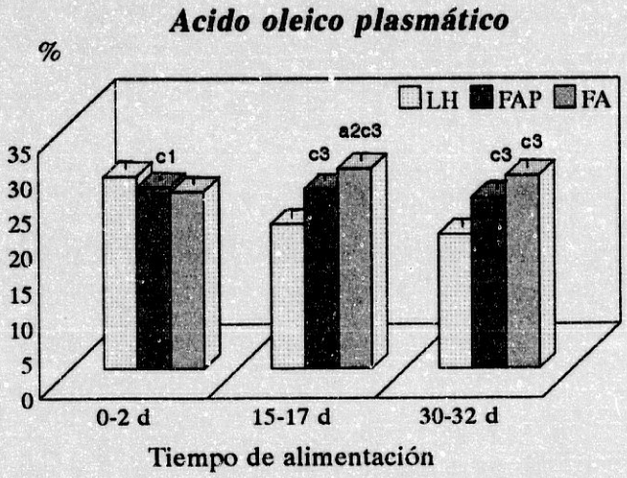


Figura 4. *Acido oleico plasmático en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: p < 0.05. 2: p < 0.01. 3: p < 0.001.*

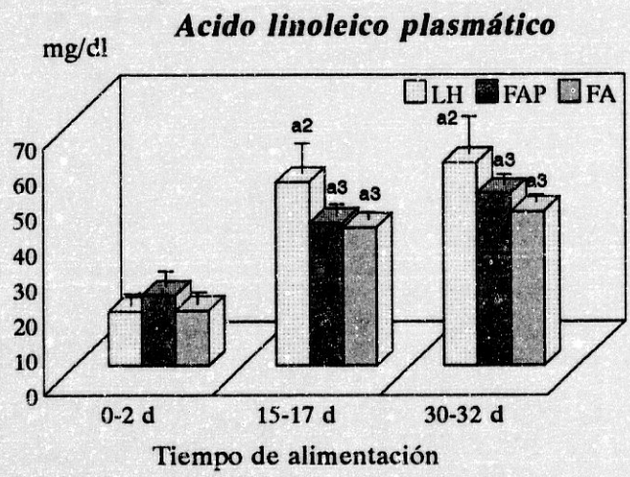


Figura 5. *Acido linoleico plasmático en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 2: p < 0.01. 3: p < 0.001.*

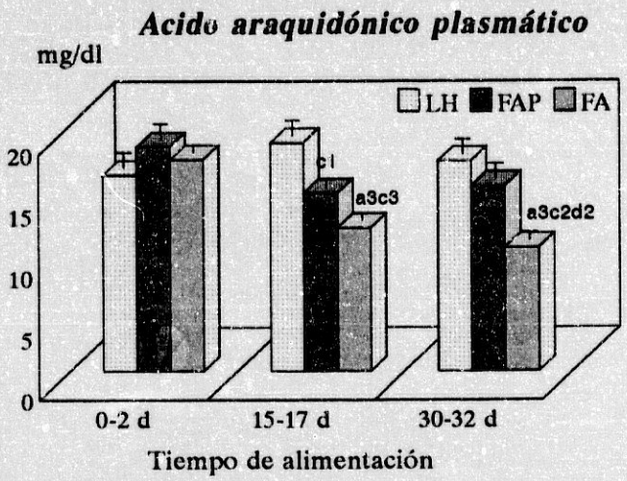


Figura 6. *Acido araquidónico plasmático en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: p < 0.05. 2: p < 0.01. 3: p < 0.001.*

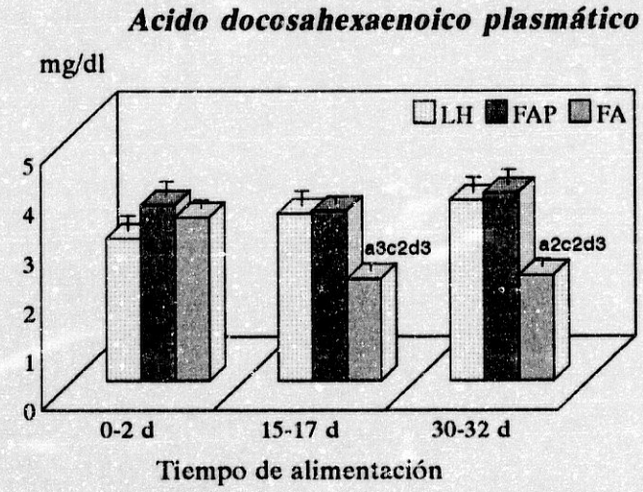


Figura 7. *Acido docosahexaenoico plasmático en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 2: p < 0.01. 3: p < 0.001.*

Fracciones plasmáticas

Los lípidos plasmáticos fueron separados en fosfolípidos, ésteres de colesterol y triglicéridos, con objeto de cuantificar el perfil de ácidos grasos de los mismos. Dada la dificultad que entraña el uso de un estándar interno, cuando la muestra está muy manipulada en varios pasos de cromatografía, desestimamos la utilización de éste y tan sólo los datos se expresaron en porcentaje del total de ácidos grasos analizados en cada fracción.

a) *Fosfolípidos*

Los valores relativos a los ácidos grasos de los fosfolípidos y sus principales índices se encuentran en las tablas 24-28B. Con respecto a los saturados, observamos que el 14:0 mantuvo sus proporciones en el grupo LH con valores superiores a los de los niños que recibieron fórmula (tabla 22). También, se apreció un descenso significativo del 16:0 en los fosfolípidos desde los 15-17 días de iniciarse la alimentación en los grupos LH y FAP, aunque fue más acusado para este último. En el caso del 18:0, sus proporciones tendieron a aumentar para esta fracción en los grupos de LH y FA, y para el caso del 22:0 y del 24:0, ambos presentaron una disminución de sus valores que fueron significativos para el 22:0 en el grupo alimentado con FAP desde los 15-17 días después de iniciarse la alimentación y para el 24:0 a los 30-32 días en los grupos alimentados con fórmula.

Con respecto al palmitoleico (16:1n-7) recogido en la tabla 25, sus perfiles descendieron a lo largo del periodo de estudio en los tres grupos de alimentación, aunque el descenso fue mayor en el grupo FAP. El ácido oleico disminuyó con la edad postnatal desde los 15-17 días en el grupo alimentado con LH, manteniendo sus proporciones en los grupos alimentados con fórmula. Cabe destacar el alto contenido del 24:1n-9 (ácido nervónico) en esta fracción, aunque no se encontraron diferencias dignas de mención entre los diferentes grupos.

La tabla 26 muestra los valores de los AGPI-CL n-6. El ácido linoleico aumentó su contenido desde el inicio de la alimentación hasta los 30-32 días. En este tiempo, el grupo LH tendió a presentar un menor contenido de ácido linoleico. Las proporciones de 20:2n-6 se

incrementaron conforme avanzaba el estudio en los 3 grupos, aunque el porcentaje de este ácido fue inferior en los niños que recibieron fórmula. En el caso del 20:4n-6 no se apreció una disminución significativa de sus porcentajes con el tiempo de alimentación en los grupos LH y FAP. Sin embargo, en el FA descendieron desde los 15-17 días.

Con respecto a los poliinsaturados de la serie n-3, es de destacar la tendencia a presentar mayor contenido de 20:5n-3 que presentaron los grupos alimentados con las fórmulas, aunque no existieron diferencias significativas. La cantidad de 22:6n-3 disminuyó de forma progresiva en el grupo de FA, mientras que se mantuvo o incluso tendió a incrementarse con el grupo FAP, encontrándose diferencias significativas a los 30-32 días de iniciada la alimentación entre el grupo de fórmula estándar y el de fórmula suplementada.

El grupo LH presentó un mayor contenido de ácidos grasos saturados y menor contenido de ácidos grasos monoinsaturados que los niños que recibieron fórmulas (tabla 28A). Con respecto a los AGPI-CL de las series n-6 y n-3, se encontró que a los 15-17 días de edad había más cantidad de estos ácidos grasos en los fosfolípidos de los niños alimentados con LH que en los alimentados con las fórmulas, a pesar de que a los 0-2 días de iniciada la alimentación el contenido de AGPI en el grupo LH era incluso inferior al de los otros dos grupos. Sin embargo, a los 30-32 días, los niños que recibieron la fórmula suplementada con AGPI-CL tenían una cantidad de AGPI de más de 18 átomos de carbono similar al grupo de LH y superior al grupo FA. Como consecuencia, las relaciones entre el 20:4n-6 y su precursor y entre el 22:5n-3 y 22:6n-3 tendieron a ser superiores en el grupo FA. La suma de los dimetilacetales presentes en esta fracción fue superior en el grupo FAP, incrementándose desde 1.5% a un 5%, aproximadamente.

Por último, el índice de insaturación de los fosfolípidos se vio escasamente modificado por el tipo de alimentación, aunque el grupo FAP mostró un valor más alto para este índice a los 30-32 días.

Tabla 24. *Perfil de ácidos grasos saturados de los fosfolípidos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.25 ± 0.06	0.17 ± 0.05	0.18 ± 0.04
12:0	FAP	0.14 ± 0.06	0.11 ± 0.04	0.11 ± 0.05
	FA	0.07 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.02
	LH	0.76 ± 0.16	0.60 ± 0.11	0.74 ± 0.11
14:0	FAP	0.57 ± 0.11	0.34 ± 0.03^{a1c1}	0.34 ± 0.03^{a1c3}
	FA	0.41 ± 0.04	0.43 ± 0.05	0.41 ± 0.04^{c2}
	LH	32.67 ± 0.97	24.21 ± 1.18^{a3}	24.73 ± 1.01^{a3}
16:0	FAP	28.82 ± 1.11	22.45 ± 0.94^{a3}	19.70 ± 1.02^{a3c2}
	FA	26.72 ± 1.17^{c1}	23.31 ± 1.03	23.17 ± 0.76
	LH	16.72 ± 0.92	19.13 ± 0.76	21.19 ± 1.01^{a1}
18:0	FAP	16.42 ± 0.62	18.05 ± 0.65	18.20 ± 0.55^{c1}
	FA	14.49 ± 0.91	18.12 ± 0.60^{a1}	19.43 ± 0.61^{a3}
	LH	0.82 ± 0.14	0.78 ± 0.07	0.66 ± 0.06
20:0	FAP	0.92 ± 0.05	0.89 ± 0.03	0.73 ± 0.05
	FA	0.89 ± 0.07	0.91 ± 0.11	0.74 ± 0.03
	LH	1.65 ± 0.18	1.49 ± 0.18	1.42 ± 0.11
22:0	FAP	1.78 ± 0.11	1.40 ± 0.06^{a1}	1.27 ± 0.07^{a2}
	FA	1.71 ± 0.18	1.66 ± 0.21	1.32 ± 0.06
	LH	1.70 ± 0.19	1.41 ± 0.17	1.33 ± 0.11
24:0	FAP	1.89 ± 0.14	1.17 ± 0.07^{a2}	0.97 ± 0.10^{a3}
	FA	1.70 ± 0.18	1.37 ± 0.13	1.06 ± 0.05^{a2}

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 25. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de los fosfolípidos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.78 ± 0.17	0.72 ± 0.11^{a3}	0.60 ± 0.11^{a3}
16:1n-7	FAP	1.12 ± 0.19	0.35 ± 0.03^{a1c1}	0.29 ± 0.05^{a1c1}
	FA	1.10 ± 0.21	0.57 ± 0.10^{a2}	0.38 ± 0.06^{a3}
	LH	0.36 ± 0.05	0.29 ± 0.03	0.35 ± 0.07
16:1n-9	FAP	0.46 ± 0.05	0.41 ± 0.03	0.39 ± 0.03
	FA	0.40 ± 0.07	0.43 ± 0.04^{c1}	0.50 ± 0.05^{c1}
	LH	4.38 ± 0.25	2.51 ± 0.13^{a3}	2.18 ± 0.18^{a3}
18:1n-7	FAP	4.26 ± 0.29	2.94 ± 0.15^{a3}	2.37 ± 0.09^{a3}
	FA	3.46 ± 0.11	2.76 ± 0.10^{a3}	2.62 ± 0.07^{a3}
	LH	13.19 ± 1.03	9.48 ± 0.31^{a3}	8.73 ± 0.36^{a3}
18:1n-9	FAP	14.42 ± 0.93	15.78 ± 1.32^{c2}	12.55 ± 0.46^{c3}
	FA	13.96 ± 1.47	15.86 ± 0.92^{c3}	14.89 ± 0.33^{c3d2}
	LH	0.23 ± 0.06	0.21 ± 0.02	0.23 ± 0.04
20:1n-9	FAP	0.19 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.33 ± 0.01
	FA	0.19 ± 0.01	0.38 ± 0.03	0.42 ± 0.02
	LH	N.D.	0.07 ± 0.00	N.D.
22:1n-9	FAP	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.08 ± 0.01
	FA	0.09 ± 0.01	0.15 ± 0.06	0.09 ± 0.01
	LH	3.40 ± 0.32	2.91 ± 0.24	2.83 ± 0.28
24:1n-9	FAP	3.45 ± 0.20	3.28 ± 0.19	3.00 ± 0.14
	FA	3.25 ± 0.31	3.81 ± 0.39	3.47 ± 0.17

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 26. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de los fosfolipidos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	7.11 ± 1.29	15.63 ± 0.81[a3]	16.47 ± 1.13[a3]
18:2n-6	FAP	7.52 ± 0.99	15.64 ± 0.43[a3]	18.38 ± 0.69[a3]
	FA	8.77 ± 0.95	15.31 ± 1.00[a3]	17.75 ± 0.64[a3]
	LH	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.00
18:3n-6	FAP	0.11 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.13 ± 0.01
	FA	0.12 ± 0.06	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01
	LH	0.34 ± 0.07	0.65 ± 0.09	0.61 ± 0.05
20:2n-6	FAP	0.28 ± 0.02	0.40 ± 0.03[c2]	0.40 ± 0.02[c3]
	FA	0.28 ± 0.02	0.41 ± 0.03[a1c2]	0.44 ± 0.02[a1c2]
	LH	1.70 ± 0.27	2.92 ± 0.40	2.61 ± 0.28
20:3n-6	FAP	1.80 ± 0.28	2.24 ± 0.26	2.65 ± 0.25
	FA	2.34 ± 0.25	2.86 ± 0.32	2.74 ± 0.19
	LH	8.02 ± 1.48	9.98 ± 0.81	8.47 ± 1.34
20:4n-6	FAP	9.83 ± 1.52	6.53 ± 0.64[c1]	8.23 ± 0.76
	FA	13.12 ± 1.76	6.53 ± 0.96[a2c1]	5.68 ± 0.51[a3c1]
	LH	0.37 ± 0.02	0.40 ± 0.04	0.37 ± 0.06
22:4n-6	FAP	0.40 ± 0.07	0.36 ± 0.10	0.35 ± 0.06
	FA	0.56 ± 0.10	0.28 ± 0.03[a2]	0.27 ± 0.03[a3]
	LH	0.44 ± 0.05	0.51 ± 0.07	0.38 ± 0.08
22:5n-6	FAP	0.59 ± 0.14	0.36 ± 0.03	0.44 ± 0.04
	FA	0.81 ± 0.15	0.49 ± 0.08[a1]	0.45 ± 0.05[a2]

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 27. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 de los fosfolípidos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.13 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.03
18:3n-3	FAP	N.D.	0.61 ± 0.15	0.11 ± 0.04
	FA	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.02	0.26 ± 0.16
	LH	0.10 ± 0.00	0.17 ± 0.03	0.15 ± 0.02
20:5n-3	FAP	0.32 ± 0.05	0.23 ± 0.04	0.36 ± 0.07
	FA	0.19 ± 0.03	0.30 ± 0.09	0.26 ± 0.09
	LH	0.61 ± 0.04	1.04 ± 0.13^{a1}	1.03 ± 0.09
22:5n-3	FAP	0.66 ± 0.07	0.51 ± 0.05^{c3}	0.62 ± 0.05^{c3}
	FA	0.76 ± 0.09	0.62 ± 0.07^{c2}	0.69 ± 0.05^{c2}
	LH	1.00 ± 0.23	1.82 ± 0.18	1.83 ± 0.44
22:6n-3	FAP	1.31 ± 0.30	1.24 ± 0.17	2.03 ± 0.25
	FA	2.02 ± 0.31	1.21 ± 0.26	1.12 ± 0.15^{d1}
	LH	0.49 ± 0.15	0.30 ± 0.06	0.20 ± 0.04
20:3n-9	FAP	0.62 ± 0.25	0.33 ± 0.04	0.40 ± 0.05
	FA	0.72 ± 0.18	0.59 ± 0.07^{c2d2}	0.39 ± 0.04^{a2}

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 28A. *Indices de ácidos grasos de los fosfolípidos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	54.57 ± 1.00	47.79 ± 0.76	50.25 ± 2.17
SAT	FAP	50.54 ± 1.91	44.41 ± 1.53^{a1}	41.32 ± 1.69^{a2c2}
	FA	45.49 ± 0.97^{c1}	45.89 ± 1.43	46.23 ± 1.14
	LH	23.39 ± 1.11	16.69 ± 0.59^{a3}	15.22 ± 0.67^{a3}
MONO	FAP	24.19 ± 1.04	24.76 ± 1.32^{c2}	21.26 ± 0.55^{a2b1c3}
	FA	22.51 ± 1.80	24.20 ± 1.20^{c3}	22.57 ± 0.42^{c3d3}
	LH	8.92 ± 2.13	14.47 ± 1.30^{a3}	12.44 ± 1.69^{a2}
n6>18C	FAP	12.89 ± 1.96	9.82 ± 0.82^{c1}	12.08 ± 1.03^{b2}
	FA	17.11 ± 1.98	10.54 ± 1.34^{a1}	9.51 ± 0.74^{a2}
	LH	1.63 ± 0.24	2.99 ± 0.31	2.93 ± 0.50
n3>18C	FAP	2.20 ± 0.36^{c1}	1.87 ± 0.21^{c1}	2.87 ± 0.29
	FA	2.96 ± 0.37	2.05 ± 0.31	2.00 ± 0.20
	LH	6.65 ± 0.20	4.90 ± 0.18^{a3}	4.43 ± 0.20^{a3}
n6/n3>	FAP	6.14 ± 0.31	5.51 ± 0.26	4.51 ± 0.30^{a2b1}
	FA	5.92 ± 0.20	5.50 ± 0.47	5.04 ± 0.35

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grsos monoinsaturados. n6>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n3>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los AGPI n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP.1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 28B. *Indices de ácidos grasos de los fosfolípidos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.15 ± 0.46	1.62 ± 0.13	2.29 ± 0.41
LA/AA	FAP	1.18 ± 0.39	2.67 ± 0.31[a1]	2.57 ± 0.31[a1]
	FA	0.71 ± 0.20	2.87 ± 0.46[a1]	3.54 ± 0.29[a2]
	LH	11.21 ± 1.27	10.39 ± 0.52	10.86 ± 1.11
DPA/DHA	FAP	10.72 ± 1.57	15.01 ± 1.72	11.98 ± 1.33
	FA	9.00 ± 0.60	14.42 ± 1.51	14.51 ± 1.33
	LH	1.28 ± 0.15	1.91 ± 0.23	2.04 ± 0.14
SDMA	FAP	1.47 ± 0.15	3.46 ± 0.54[c1]	4.88 ± 0.55[a2c3]
	FA	1.50 ± 0.20	1.21 ± 0.16	1.24 ± 0.17[d3]
	LH	88.71 ± 5.68	119.98 ± 7.02[a1]	111.47 ± 9.61
UNID	FAP	103.30 ± 9.16	104.81 ± 4.63	121.27 ± 6.25
	FA	125.65 ± 7.94	107.27 ± 7.31	105.57 ± 4.63

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. DPA/DHA: Relación entre los ácidos grasos 22:5n-3 y 22:6n-3. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. SUMA: Suma total de los ácidos grasos. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

b) Ésteres de colesterol

Los valores de los ácidos grasos de los ésteres de colesterol se reflejan en las tablas 29-33B. Esta fracción se caracterizó por ser rica en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y en ácido linoleico y por un bajo contenido en AGPI-CL tanto de la serie n-6 como de la n-3.

Con respecto a los ácidos grasos saturados, debemos destacar el mayor contenido de 12:0, 14:0, 16:0 y 18:0 del grupo de LH con respecto a los niños que recibieron fórmula. En el caso del ácido palmítico (16:0), éste disminuyó sus porcentajes desde las dos semanas de inicio del estudio, siendo significativo para los grupos FAP y FA (tabla 29).

En relación a los ácidos grasos monoinsaturados (tabla 30), 16:1n-7, 18:1n-9 y 18:1n-7 fueron los que experimentaron importantes variaciones. El ácido palmitoleico disminuyó su proporción desde el inicio del estudio de forma más acusada para el grupo alimentado con la dieta FAP desde los 15-17 días de alimentación. Para el caso del 18:1n-7, igualmente se produjo una disminución de sus valores en todos los grupos de alimentación. Con respecto al ácido oleico, podemos observar un alto contenido de este ácido graso en los grupos de niños alimentados con fórmula a lo largo del periodo estudiado comparado con el grupo de LH.

En el caso de los AGPI n-6, fue notable el aumento significativo del ácido linoleico a los 15-17 días y el posterior incremento de éste a los 30-32 días en las dietas estudiadas, casi triplicando los valores iniciales sin encontrar diferencias entre los grupos de alimentación (tabla 31). El AA descendió significativamente sólo en el grupo FA a los 15-17 días después del inicio de la alimentación. También, podemos mencionar que los valores de AA de los grupos LH y FAP mostraron una mayor similitud entre ellos con respecto al grupo de FA, aunque no se encontraron diferencias estadísticas entre las dietas.

La tabla 32 describe el contenido de los AGPI de la serie n-3 los cuales presentaron proporciones casi indetectables en esta fracción, todos ellos en una proporción inferior al 0 5%. Aún así, se observó un descenso de DHA desde los 15-17 días para los grupos FAP y FA en relación al grupo LH.

Las tabla 33A y 33B presentan los índices de los ácidos grasos en los ésteres de colesterol y confirma los resultados anteriores. La proporción de saturados disminuyó con el tiempo de alimentación si bien la disminución sólo fue significativa para el grupo FA. Debemos destacar que los valores presentados por el grupo LH fueron superiores a los mostrados por los grupos alimentados con fórmula a lo largo del estudio. Los monoinsaturados también experimentaron una disminución de sus proporciones desde los 15-17 días después del inicio del estudio para los grupos alimentados con fórmula y a los 30-32 días en todos los grupos de alimentación. También hay que destacar el menor contenido de los monoinsaturados en el grupo LH desde los 15-17 días de alimentación en relación a los niños alimentados con fórmula.

Los perfiles de AGPI n-6 de más de 20 átomos de carbono se mantuvieron prácticamente constantes en todos los grupos de alimentación, excepto en el grupo FA en los que descendieron desde los 15-17 días hasta al final del estudio, aunque no se observaron diferencias estadísticas entre dietas (tabla 33A). La suma de AGPI-CL n-3 fue menor en los grupos alimentados con fórmula en relación al grupo de LH a los 30-32 días después de iniciarse el estudio. Los escasos valores en AGPI-CL de esta fracción originaron una relación entre los AGPI n-6 y n-3 muy alta, siendo claramente inferior en los grupos de fórmula en comparación con el de LH a los 30-32 días. Por esta razón, la relación entre el 22:5n-3 y el 22:6n-3 no siempre se pudo calcular por lo que no aparece en la tabla. La relación entre 18:2n-6 y 20:4n-6 aumentó desde el inicio de la alimentación hasta el final del estudio, sin existir diferencias significativas entre las tres dietas.

Finalmente, esta fracción mostró un porcentaje de insaturación muy similar en todos los grupos de alimentación sin apreciarse diferencias estadísticas significativas, aunque a los 30-32 días de iniciada la alimentación el grupo FAP tendió a presentar una proporción superior para este índice.

Tabla 29. *Perfil de ácidos grasos saturados de los ésteres de colesterol del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.63 ± 0.21	0.54 ± 0.25	0.50 ± 0.21
12:0	FAP	0.17 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.14 ± 0.02
	FA	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.03	0.18 ± 0.05
	LH	1.89 ± 0.48	2.50 ± 0.57	2.45 ± 0.35
14:0	FAP	1.16 ± 0.13	1.10 ± 0.11^{c2}	1.24 ± 0.10^{c2}
	FA	1.33 ± 0.21	1.19 ± 0.09^{c2}	1.23 ± 0.15^{c1}
	LH	24.18 ± 1.76	20.11 ± 1.41	20.48 ± 1.05
16:0	FAP	18.13 ± 0.85^{c1}	15.05 ± 0.58^{c2}	15.06 ± 0.61^{a1c3}
	FA	20.17 ± 0.92	15.49 ± 0.69^{a2c2}	15.47 ± 0.56^{a2c2}
	LH	4.93 ± 0.48	4.01 ± 0.45	4.19 ± 0.54
18:0	FAP	3.56 ± 0.27	3.13 ± 0.17	2.97 ± 0.20
	FA	3.82 ± 0.76	2.95 ± 0.16^{c1}	2.79 ± 0.18
	LH	0.25 ± 0.16	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.03
20:0	FAP	0.12 ± 0.05	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.01
	FA	0.12 ± 0.05	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.00
	LH	0.07 ± 0.00	0.34 ± 0.16	0.36 ± 0.17
22:0	FAP	0.17 ± 0.00	N.D.	0.10 ± 0.04
	FA	0.04 ± 0.00	0.45 ± 0.26	0.21 ± 0.00
	LH	0.37 ± 0.22	0.56 ± 0.27	0.19 ± 0.05
24:0	FAP	0.13 ± 0.05	0.08 ± 0.02	0.11 ± 0.04
	FA	0.21 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.00

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 30. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de los ésteres de colesterol del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	10.41 ± 0.65	6.11 ± 0.78^{a2}	4.98 ± 0.54^{a3}
16:1n-7	FAP	8.92 ± 1.23	3.67 ± 0.29^{a3c2}	2.97 ± 0.27^{a3c1}
	FA	8.47 ± 0.75	4.91 ± 0.35^{a3}	3.87 ± 0.31^{a3}
	LH	1.57 ± 0.25	1.24 ± 0.12	1.06 ± 0.08
16:1n-9	FAP	1.65 ± 0.60	1.77 ± 0.15	1.45 ± 0.09
	FA	1.86 ± 0.20	1.53 ± 0.13	1.42 ± 0.09
	LH	5.94 ± 0.51	3.44 ± 0.23^{a3}	2.75 ± 0.16^{a3}
18:1n-7	FAP	5.55 ± 0.30	3.68 ± 0.19^{a3}	2.92 ± 0.22^{a3}
	FA	4.60 ± 0.40	3.47 ± 0.18^{a1}	3.06 ± 0.13^{a2}
	LH	35.17 ± 2.88	31.75 ± 1.32	27.64 ± 1.93
18:1n-9	FAP	39.43 ± 2.38	40.57 ± 1.32^{c2}	37.63 ± 1.30^{c3}
	FA	39.67 ± 1.47	42.94 ± 1.52^{c3}	38.17 ± 0.96^{b1c3}
	LH	0.32 ± 0.12	0.22 ± 0.04	0.20 ± 0.05
20:1n-9	FAP	0.18 ± 0.07	0.20 ± 0.09	0.14 ± 0.02
	FA	0.15 ± 0.04	0.22 ± 0.07	0.16 ± 0.04
	LH	0.36 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.12 ± 0.07
22:1n-9	FAP	0.37 ± 0.00	0.41 ± 0.00	0.15 ± 0.01
	FA	N.D.	0.17 ± 0.02	N.D.
	LH	0.14 ± 0.00	0.50 ± 0.19	0.08 ± 0.03
24:1n-9	FAP	N.D.	N.D.	0.10 ± 0.03
	FA	0.49 ± 0.00	0.12 ± 0.00	N.D.

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 31. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de los ésteres de colesterol del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	9.06 ± 2.80	23.63 ± 2.92	28.63 ± 3.51^{a2}
18:2n-6	FAP	11.65 ± 1.57	24.92 ± 1.07^{a3}	29.58 ± 1.10^{a3b1}
	FA	10.91 ± 1.02	21.47 ± 1.56^{a2}	28.52 ± 1.31^{a3b2}
	LH	0.20 ± 0.10	0.36 ± 0.06	0.26 ± 0.05
18:3n-6	FAP	0.22 ± 0.04	0.31 ± 0.04	0.29 ± 0.03
	FA	0.34 ± 0.13	0.44 ± 0.05	0.35 ± 0.03
	LH	0.25 ± 0.05	0.24 ± 0.04	0.25 ± 0.06
20:2n-6	FAP	0.21 ± 0.02	0.26 ± 0.05	0.24 ± 0.03
	FA	0.20 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.19 ± 0.02^{b1}
	LH	0.37 ± 0.13	0.54 ± 0.09	0.52 ± 0.09
20:3n-6	FAP	0.40 ± 0.13	0.43 ± 0.03	0.47 ± 0.04
	FA	0.42 ± 0.05	0.44 ± 0.05	0.47 ± 0.03
	LH	2.09 ± 0.67	3.50 ± 0.92	3.62 ± 1.02
20:4n-6	FAP	5.54 ± 0.84	3.15 ± 0.33	3.26 ± 0.28
	FA	5.69 ± 1.05	2.73 ± 0.38^{a1}	2.85 ± 0.26^{a1}
	LH	0.24 ± 0.01	0.28 ± 0.14	0.12 ± 0.02
22:4n-6	FAP	0.19 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.01
	FA	0.16 ± 0.01^{c1}	0.11 ± 0.05	0.12 ± 0.01
	LH	0.23 ± 0.13	0.11 ± 0.02^{a3}	0.32 ± 0.08
22:5n-6	FAP	0.21 ± 0.08	0.27 ± 0.03^{c2}	0.17 ± 0.03
	FA	0.36 ± 0.07	0.15 ± 0.05^{d1}	0.10 ± 0.05

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 32. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 de los ésteres de colesterol del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.16 ± 0.08	0.37 ± 0.13	0.38 ± 0.08
18:3n-3	FAP	0.17 ± 0.03	0.32 ± 0.07	0.35 ± 0.05
	FA	0.19 ± 0.04	0.33 ± 0.04[a1]	0.33 ± 0.02[a1]
	LH	0.22 ± 0.00	0.14 ± 0.03	0.17 ± 0.08
20:5n-3	FAP	0.13 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.12 ± 0.02
	FA	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.03	0.10 ± 0.01
	LH	0.04 ± 0.00	0.18 ± 0.03	0.16 ± 0.01
22:5n-3	FAP	N.D.	N.D.	0.08 ± 0.00[c1]
	FA	0.11 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.00[c1]
	LH	0.32 ± 0.07	0.23 ± 0.04	0.33 ± 0.05
22:6n-3	FAP	0.20 ± 0.03	0.13 ± 0.01[c1]	0.14 ± 0.02[c3]
	FA	0.29 ± 0.05	0.15 ± 0.02[a1]	0.15 ± 0.02[aic2]
	LH	0.34 ± 0.18	0.12 ± 0.00	0.09 ± 0.04
20:3n-9	FAP	0.35 ± 0.12	0.18 ± 0.03	0.16 ± 0.02[c1]
	FA	0.33 ± 0.16	0.18 ± 0.02	0.15 ± 0.01[a1]

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 33A. *Indices de ácidos grasos de los ésteres de colesterol del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	32.32 ± 2.24	28.18 ± 2.99	28.29 ± 2.30
SAT	FAP	23.44 ± 1.72^{c2}	19.61 ± 0.81^{c2}	19.70 ± 0.94^{c2}
	FA	25.83 ± 1.22	20.39 ± 1.00^{a1c2}	20.05 ± 1.10^{a1c1}
	LH	53.47 ± 3.75	42.78 ± 2.27	36.70 ± 2.37^{a2}
MONO	FAP	56.10 ± 5.20	49.65 ± 1.33^{a1c1}	44.86 ± 1.10^{a3c3}
	FA	54.76 ± 0.80	52.87 ± 1.57^{a2c2}	46.24 ± 1.13^{b2c3}
	LH	3.01 ± 0.96	3.82 ± 1.00	4.06 ± 1.04
n6>18C	FAP	6.55 ± 1.09	3.93 ± 0.33	4.10 ± 0.31
	FA	6.51 ± 1.07	3.47 ± 0.37^{a1}	3.32 ± 0.35^{a2}
	LH	0.38 ± 0.06	0.36 ± 0.02	0.46 ± 0.04
n3>18C	FAP	0.25 ± 0.05	0.20 ± 0.03^{c2}	0.20 ± 0.03^{c3}
	FA	0.41 ± 0.09	0.24 ± 0.03^{a1}	0.19 ± 0.03^{a2c3}

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grasos monoinsaturados. n-6>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n-3>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 33B. *Indices de ácidos grasos de los ésteres de colesterol del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	7.55 ± 1.06	11.32 ± 3.14	8.88 ± 2.06
n6/n3>	FAP	31.64 ± 5.84	23.28 ± 3.51^{c1}	23.26 ± 1.85^{c1}
	FA	19.56 ± 5.05	16.82 ± 2.15	23.61 ± 3.87^{c1}
	LH	2.66 ± 1.04	8.83 ± 2.22	10.03 ± 1.51^{a1}
LA/AA	FAP	2.53 ± 0.48	9.04 ± 1.05^{a2}	9.87 ± 0.85^{a3}
	FA	2.26 ± 0.49	8.76 ± 0.83^{a2}	10.76 ± 0.92^{a3}
	LH	0.10 ± 0.00	0.07 ± 0.00^{a3}	0.23 ± 0.19^{a3}
SDMA	FAP	N.D.	0.14 ± 0.04	0.09 ± 0.01
	FA	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.03	0.13 ± 0.03
	LH	84.34 ± 2.88	109.00 ± 7.79	114.40 ± 7.68
UNID	FAP	126.76 ± 19.57	118.01 ± 2.18	123.40 ± 2.57
	FA	107.14 ± 4.20	113.41 ± 3.27	119.17 ± 2.80

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. n6/n3>: Relación entre los AGPI n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

c) *Triglicéridos*

Las tablas 34, 35, 36 y 37 recogen la composición de ácidos grasos de la fracción de triglicéridos plasmáticos. En la tabla 38 se encuentran los índices y relaciones calculadas para estos ácidos grasos.

Los triglicéridos plasmáticos se caracterizaron por presentar un alto contenido en ácidos grasos saturados y monoinsaturados y una menor proporción de AGPI-CL. Tampoco se encontraron dimetilacetales que sí estaban presentes en otras fracciones.

Los cambios debidos al tiempo y tipo de alimentación recibida fueron muy similares a los descritos en otras fracciones y a los propios ácidos grasos totales plasmáticos, destacando el mayor contenido de ácidos grasos saturados, especialmente 14:0, 16:0 y 18:0 y menor de ácidos grasos monoinsaturados (18:1n-9) presentes en el grupo LH.

Se observó muy especialmente en esta fracción la presencia de una mayor proporción de 18:2n-6 en el grupo que recibió LH con respecto a los grupos alimentados con fórmulas adaptadas.

En las figuras 8, 9, 10, 11 y 12 se resumen los principales cambios observados en los porcentajes de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, ácido linoleico, AA y DHA encontrados en las diferentes fracciones plasmáticas.

Tabla 34. *Perfil de ácidos grasos saturados de los triglicéridos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.18 ± 0.58	2.21 ± 0.79	1.88 ± 0.53
12:0	FAP	0.29 ± 0.06	0.37 ± 0.07^{c2}	0.48 ± 0.05^{c3}
	FA	0.26 ± 0.06	0.43 ± 0.07^{c2}	0.44 ± 0.05^{c3}
	LH	3.04 ± 0.42	5.44 ± 0.89	4.35 ± 0.64
14:0	FAP	1.92 ± 0.19	2.08 ± 0.15^{c2}	2.52 ± 0.27^{c2}
	FA	1.77 ± 0.13	2.12 ± 0.15^{c3}	2.01 ± 0.16^{c3}
	LH	28.01 ± 1.00	26.00 ± 0.62	25.97 ± 1.09
16:0	FAP	22.66 ± 1.36	20.28 ± 0.59^{c2}	20.84 ± 0.72^{c2}
	FA	21.41 ± 1.52	20.61 ± 1.02^{c2}	20.43 ± 0.38^{c2}
	LH	6.32 ± 0.88	5.20 ± 0.61	5.35 ± 0.36
18:0	FAP	5.15 ± 0.58	4.94 ± 0.20	5.14 ± 0.19
	FA	6.40 ± 1.54	4.36 ± 0.18	4.14 ± 0.18
	LH	0.38 ± 0.23	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.02
20:0	FAP	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.01
	FA	0.20 ± 0.03	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01
	LH	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.02	0.12 ± 0.02
22:0	FAP	0.09 ± 0.00	N.D.	0.09 ± 0.04
	FA	0.07 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.07 ± 0.02
	LH	0.67 ± 0.49	0.23 ± 0.14	0.18 ± 0.08
24:0	FAP	0.09 ± 0.03	N.D.	0.08 ± 0.01
	FA	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.00

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. c: Diferencia significativa vs LH. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 35. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de los triglicéridos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	7.42 ± 0.34	3.85 ± 0.53^{a3}	3.62 ± 0.41^{a3}
16:1n-7	FAP	5.35 ± 0.98	2.60 ± 0.28^{a1}	2.06 ± 0.19^{a2c1}
	FA	4.06 ± 0.60	2.81 ± 0.29^{a1}	2.37 ± 0.16^{a2}
	LH	0.89 ± 0.15	0.97 ± 0.07	0.73 ± 0.03^{b1}
16:1n-9	FAP	1.00 ± 0.06	1.62 ± 0.34	1.07 ± 0.08^{c2}
	FA	1.15 ± 0.26	1.03 ± 0.06	1.07 ± 0.07^{c1}
	LH	5.88 ± 0.77	3.47 ± 0.35	3.33 ± 0.41
18:1n-7	FAP	5.72 ± 1.02	4.18 ± 0.46	4.05 ± 0.16
	FA	5.86 ± 0.49	4.39 ± 0.20	4.45 ± 0.20
	LH	34.71 ± 2.01	33.13 ± 0.82	33.24 ± 1.57
18:1n-9	FAP	43.56 ± 2.17	46.24 ± 1.32^{c3}	46.28 ± 1.18^{c3}
	FA	43.30 ± 2.36	47.42 ± 0.98^{c3}	47.84 ± 0.84^{c3}
	LH	0.37 ± 0.10	0.41 ± 0.03	0.42 ± 0.02
20:1n-9	FAP	0.49 ± 0.06	0.50 ± 0.02	0.46 ± 0.02
	FA	0.55 ± 0.11	0.45 ± 0.03	0.49 ± 0.03
	LH	N.D.	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.01
22:1n-9	FAP	0.06 ± 0.01	N.D.	N.D.
	FA	N.D.	0.02 ± 0.00	0.15 ± 0.05
	LH	N.D.	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.02
24:1n-9	FAP	0.10 ± 0.00	0.04 ± 0.00	N.D.
	FA	N.D.	N.D.	N.D.

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 36. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de los triglicéridos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	6.80 ± 2.11	14.55 ± 1.76	16.29 ± 2.46
18:2n-6	FAP	8.17 ± 1.31	12.74 ± 0.40	13.54 ± 0.26
	FA	8.80 ± 1.81	12.39 ± 0.86	13.88 ± 0.48
	LH	0.21 ± 0.00	0.15 ± 0.02	0.11 ± 0.02
18:3n-6	FAP	0.09 ± 0.01[c1]	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.01
	FA	0.08 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02
	LH	0.42 ± 0.10	0.62 ± 0.11	0.55 ± 0.05
20:2n-6	FAP	0.40 ± 0.06	0.45 ± 0.04	0.40 ± 0.02[c2]
	FA	0.42 ± 0.06	0.37 ± 0.02	0.41 ± 0.03[c2]
	LH	0.27 ± 0.00	0.38 ± 0.06	0.38 ± 0.06
20:3n-6	FAP	0.30 ± 0.05	0.26 ± 0.03	0.21 ± 0.02[c2]
	FA	0.30 ± 0.06	0.21 ± 0.02	0.24 ± 0.02[c2]
	LH	1.03 ± 0.26	1.20 ± 0.24	1.02 ± 0.25
20:4n-6	FAP	1.88 ± 0.31	1.21 ± 0.13	0.94 ± 0.08
	FA	1.75 ± 0.24	0.88 ± 0.09[a3]	0.83 ± 0.06[a3]
	LH	0.25 ± 0.07	0.24 ± 0.04	0.17 ± 0.04
22:4n-6	FAP	0.33 ± 0.05	0.14 ± 0.02	0.11 ± 0.01
	FA	0.30 ± 0.08	0.09 ± 0.02[a3c1]	0.10 ± 0.01[a3]
	LH	0.63 ± 0.27	0.41 ± 0.09	0.25 ± 0.06
22:5n-6	FAP	0.65 ± 0.10	0.42 ± 0.06	0.31 ± 0.04
	FA	0.88 ± 0.28	0.33 ± 0.04	0.23 ± 0.02

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 37. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 de los triglicéridos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.55 ± 0.00	0.67 ± 0.13	0.79 ± 0.18
18:3n-3	FAP	0.59 ± 0.08	0.74 ± 0.05	0.85 ± 0.07
	FA	0.64 ± 0.17	0.81 ± 0.10	0.89 ± 0.07
	LH	0.05 ± 0.00	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.01
20:5n-3	FAP	0.07 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.09 ± 0.01
	FA	0.07 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.15 ± 0.05
	LH	0.11 ± 0.03	0.21 ± 0.09	0.21 ± 0.06
22:5n-3	FAP	N.D.	N.D.	N.D.
	FA	N.D.	N.D.	N.D.
	LH	0.49 ± 0.22	0.22 ± 0.04	0.33 ± 0.13
22:6n-3	FAP	0.77 ± 0.20	0.30 ± 0.08	0.24 ± 0.03
	FA	1.02 ± 0.12	0.14 ± 0.03^{a3}	0.12 ± 0.02^{a3d2}
	LH	0.40 ± 0.04	0.25 ± 0.04	0.19 ± 0.05
20:3n-9	FAP	0.49 ± 0.10	0.28 ± 0.04	0.25 ± 0.03
	FA	0.48 ± 0.10	0.35 ± 0.04^{a1}	0.26 ± 0.03^{a3}

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 38. *Indices de ácidos grasos de los triglicéridos del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH). fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	40.69 ± 2.52	40.15 ± 1.91	38.59 ± 1.91
SAT	FAP	30.90 ± 2.07^{c1}	28.19 ± 0.80^{c3}	29.66 ± 1.02^{c3}
	FA	30.45 ± 3.04	28.63 ± 1.05^{c3}	27.46 ± 0.64^{c3}
	LH	49.18 ± 2.91	41.14 ± 1.79	41.31 ± 1.99
MONO	FAP	56.17 ± 1.48	55.14 ± 1.08^{c1}	53.34 ± 0.88^{c2}
	FA	54.92 ± 1.42	55.61 ± 0.86	55.44 ± 0.44^{c1}
	LH	2.24 ± 0.50	2.80 ± 0.52	2.37 ± 0.44
n6>18C	FAP	3.19 ± 0.60	2.45 ± 0.22	1.94 ± 0.13
	FA	3.58 ± 0.51	1.83 ± 0.13^{a3}	1.75 ± 0.11^{a3}
	LH	0.55 ± 0.24	0.32 ± 0.07	0.50 ± 0.18
n3>18C	FAP	0.78 ± 0.20	0.32 ± 0.08	0.26 ± 0.03
	FA	1.04 ± 0.11	0.16 ± 0.03^{a3}	0.14 ± 0.02^{a3d2}
	LH	5.54 ± 1.84	9.01 ± 0.82	8.20 ± 3.01
n6/n3>	FAP	5.23 ± 1.16	9.93 ± 1.06	8.93 ± 1.04
	FA	3.49 ± 0.41	14.29 ± 2.45	15.45 ± 2.23^{d1}
	LH	6.62 ± 1.39	15.11 ± 3.59	18.81 ± 2.46
LA/AA	FAP	6.36 ± 2.11	12.09 ± 1.57	16.20 ± 1.41
	FA	5.52 ± 1.81	15.70 ± 2.13^{a2}	17.88 ± 1.45^{a2}
	LH	76.85 ± 4.30	85.56 ± 4.63	87.71 ± 5.91
UNID	FAP	93.87 ± 4.09	95.49 ± 1.09	93.11 ± 1.59
	FA	97.36 ± 4.37	92.60 ± 2.08	94.56 ± 1.24

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grasos monoinsaturados. n6>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n3>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los AGPI n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. UNID: Índice de insaturación. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

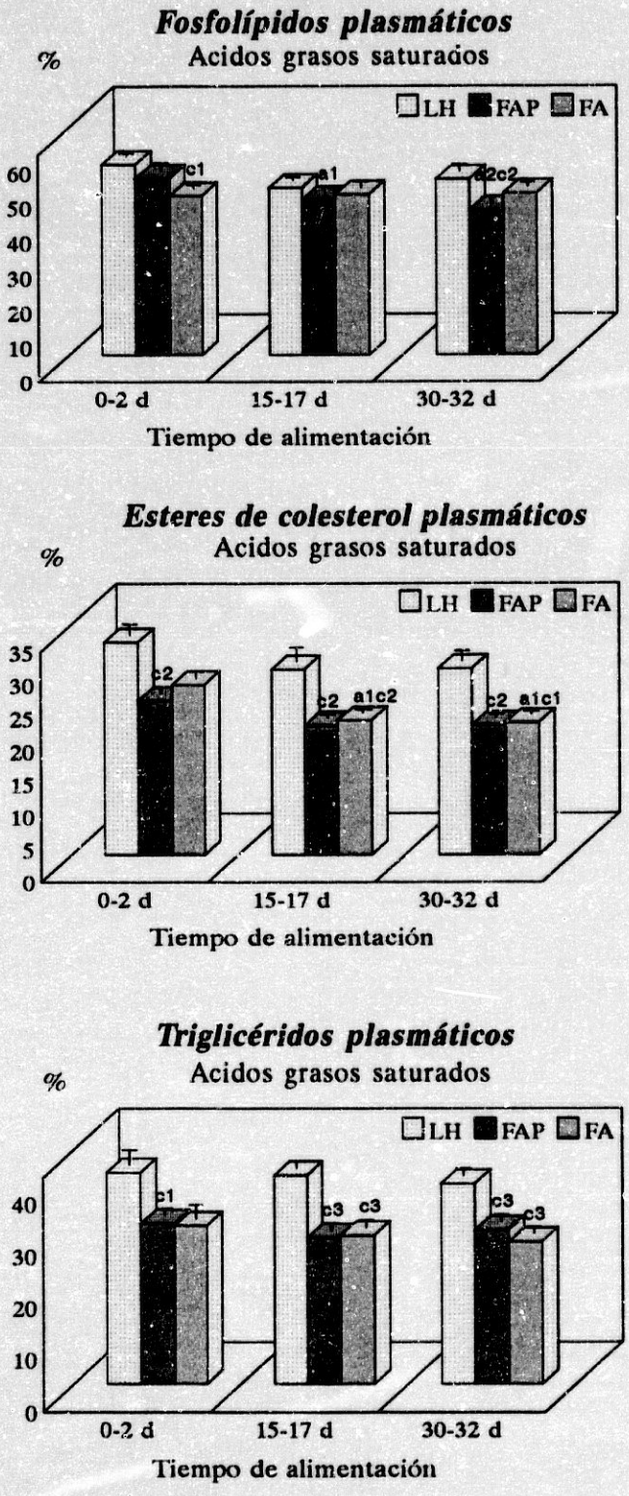


Figura 8. *Acidos grasos saturados de los lípidos plasmáticos en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

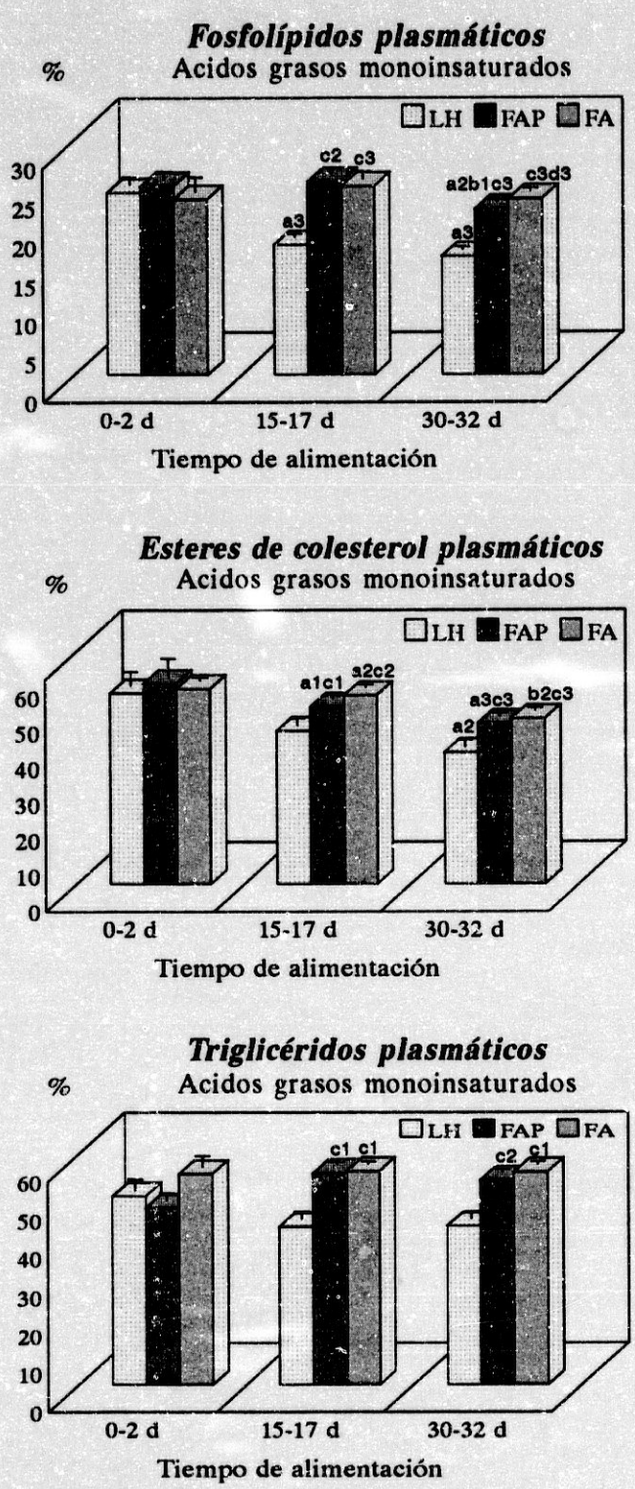


Figura 9. *Acidos grasos monoinsaturados de los lípidos plasmáticos en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.*

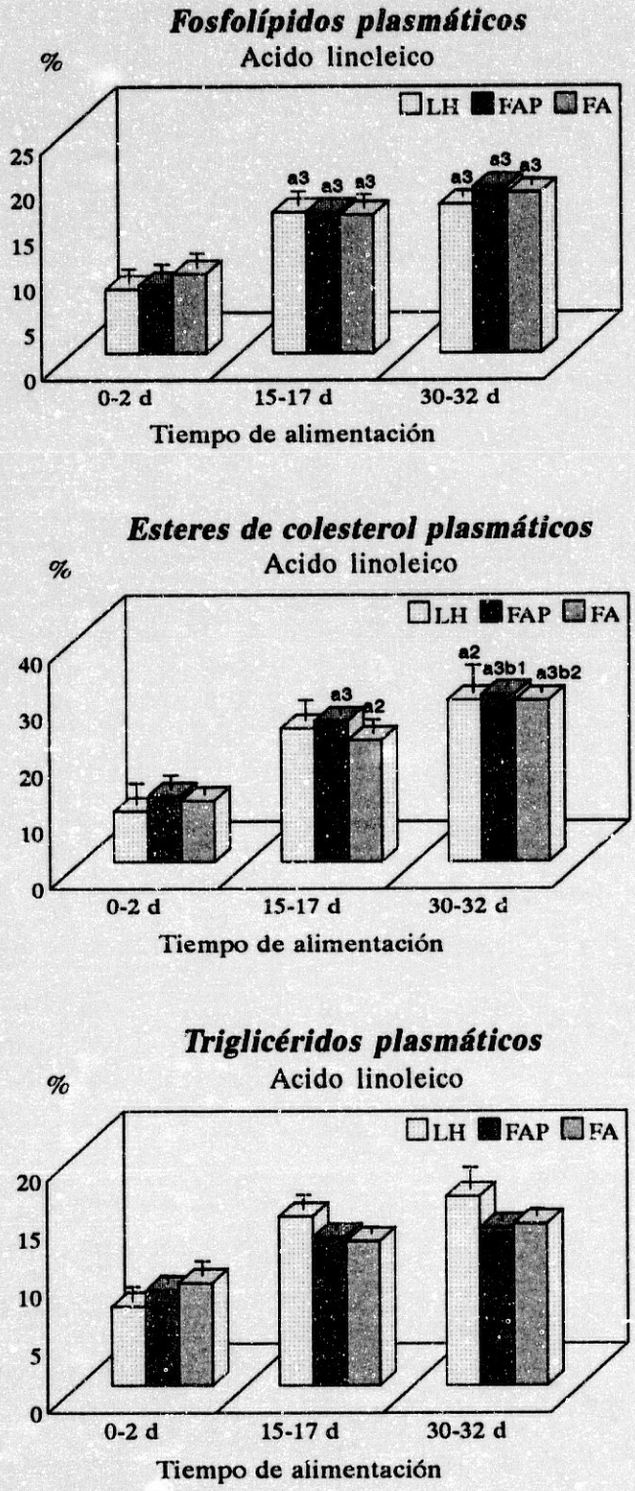


Figura 10. *Acido linoleico de los lípidos plasmáticos en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

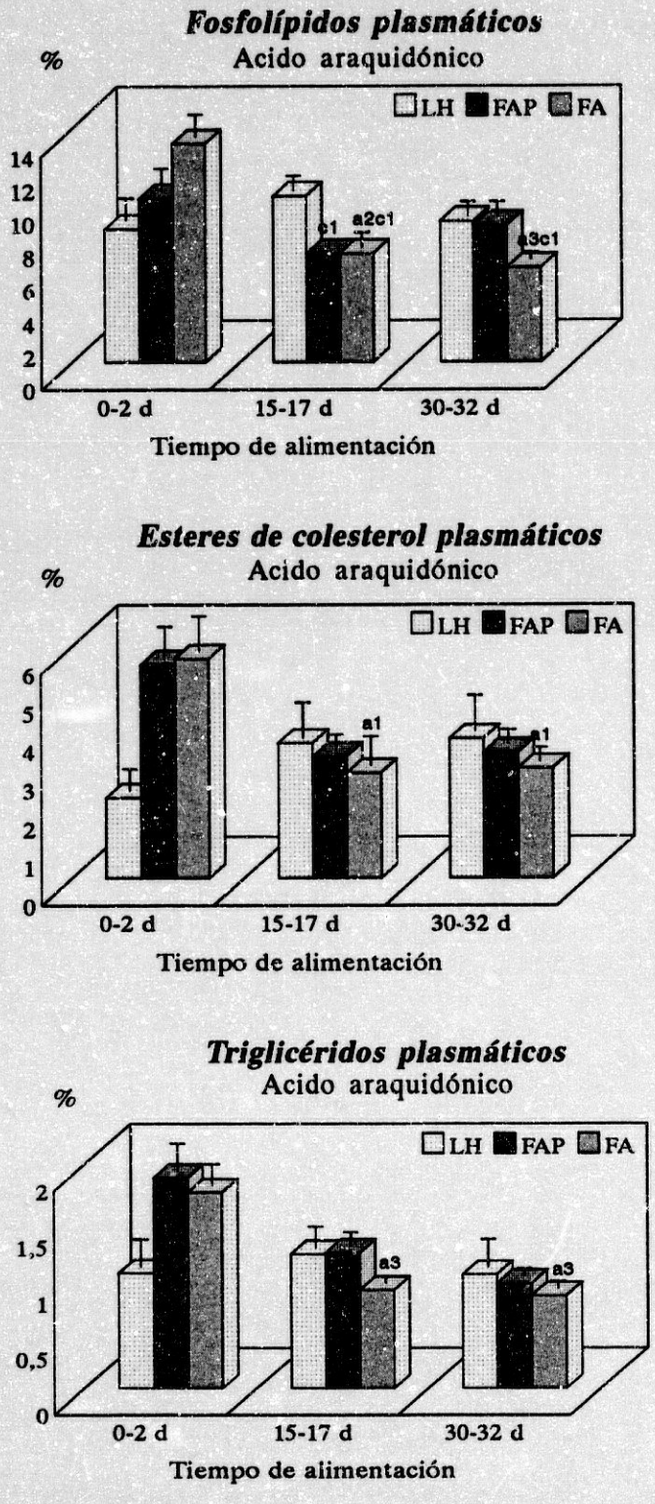


Figura 11. *Acido araquidónico de los lípidos plasmáticos en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

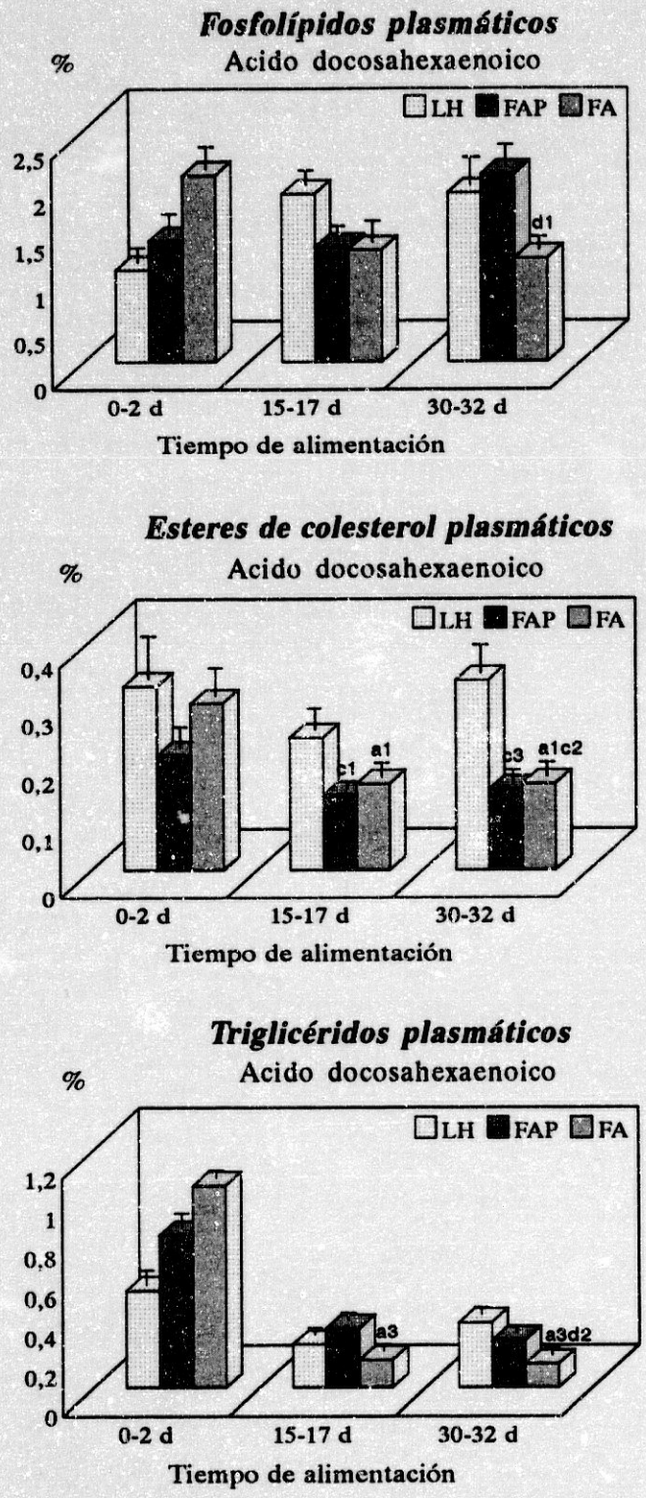


Figura 12. *Acido docosahexaenoico de los lípidos plasmáticos en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

CAMBIOS EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PLASMÁTICA

Los datos sobre la capacidad antioxidante del plasma se encuentra en la tabla 39. No existieron diferencias significativas entre los 3 grupos de alimentación a lo largo del estudio, aunque el grupo LH tendió a presentar una mayor capacidad antioxidante que los otros dos. Los valores encontrados para los dos grupos alimentados con fórmulas fueron muy similares.

Tabla 39. *Capacidad antioxidante del plasma en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

	Tiempo de alimentación		
Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
LH	71.73 ± 8.47	70.66 ± 4.35	69.63 ± 6.19
FAP	57.10 ± 3.22	57.81 ± 3.28	57.03 ± 2.52
FA	60.27 ± 3.61	59 51 ± 3.77	57.26 ± 3.60

Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición de formación de peróxidos lipidicos y son media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14.

CAMBIOS EN LA RELACIÓN MOLAR COLESTEROL/FÓSFORO ERITROCITARIA

En cuanto a la relación molar de colesterol/fósforo presentada en la tabla 40, no observamos que la dieta tuviera una influencia directa sobre este parámetro en las membranas del eritrocito, si bien los valores tendían a disminuir con el tiempo, sin que se apreciaran diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 40. *Relación molar de colesterol/fósforo eritrocitaria en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

	Tiempo de alimentación		
Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
LH	0.67 ± 0.07	0.54 ± 0.07	0.61 ± 0.07
FAP	0.74 ± 0.04	0.66 ± 0.04	0.62 ± 0.04
FA	0.72 ± 0.04	0.69 ± 0.03	0.66 ± 0.05

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14.

CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN RELATIVA DE FOSFOLÍPIDOS ERITROCITARIOS

La tabla 41 muestra la composición de los principales fosfolípidos eritrocitarios de los recién nacidos pretérmino, siendo las esfingomielinas (ES), la fosfatidilcolina (PC) y la fosfatidiletanolamina (PE) las fracciones mayoritarias (80%). No se apreciaron variaciones importantes de los distintos fosfolípidos a lo largo del periodo estudiado, aunque sí se observó que el grupo alimentado con LH mostraba un mayor contenido en ES y PS e inferior en PE, con respecto a los grupos alimentados con fórmula. Este hecho fue estadísticamente significativo en

las fracciones ES y PE a los 15-17 días después de iniciarse la alimentación. No existió ninguna diferencia entre los dos grupos que recibieron fórmulas adaptadas.

Tabla 41. *Composición de los principales fosfolípidos eritrocitarios en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
Esfingomielinas	LH	35.43 ± 2.01	34.17 ± 1.49	34.29 ± 1.16
	FAP	31.48 ± 1.35	29.83 ± 0.82^{c1}	30.43 ± 0.81
	FA	32.13 ± 0.93	29.74 ± 0.80^{c1}	30.40 ± 0.84
Fosfatidilcolina	LH	24.42 ± 1.38	24.06 ± 1.06	22.71 ± 1.04
	FAP	23.84 ± 0.92	24.57 ± 0.62	23.98 ± 0.52
	FA	23.62 ± 1.20	25.56 ± 0.74	23.26 ± 0.74
Fosfatidilinositol	LH	1.53 ± 0.29	1.82 ± 0.27	2.02 ± 0.26
	FAP	1.63 ± 0.24	1.68 ± 0.19	1.81 ± 0.16
	FA	1.83 ± 0.22	2.25 ± 0.18	1.89 ± 0.22
Fosfatidilserina	LH	15.10 ± 0.37	15.11 ± 0.55	15.14 ± 0.75
	FAP	13.66 ± 0.60	13.89 ± 0.37	13.52 ± 0.38
	FA	14.67 ± 0.40	13.69 ± 0.35	13.39 ± 0.35^{a1}
Fosfatidiletanolamina	LH	22.97 ± 1.41	23.34 ± 1.34	25.58 ± 1.82
	FAP	25.99 ± 0.86	27.56 ± 0.51^{c2}	27.67 ± 0.67
	FA	26.07 ± 0.99	26.87 ± 0.86^{c1}	29.15 ± 0.91

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$.

CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ERITROCITARIOS

Fosfolípidos totales

Los datos presentados desde la tabla 42 a la 47B recogen el perfil de ácidos grasos y sus índices en los lípidos totales de los eritrocitos. En relación al plasma, los eritrocitos se caracterizaron por presentar un mayor contenido de ácidos grasos saturados, de AGPI-CL de más de 18 átomos de carbono y un menor contenido de monoinsaturados y de 18:2n-6.

Los hematíes mostraron un alto contenido de 12:0, 14:0 y 16:0 en el grupo LH con respecto al FAP a lo largo del periodo estudiado. En el caso del 16:0, éste experimentó un descenso significativo a los 30-32 días en los tres grupos de alimentación, aunque el grupo de niños alimentados con LH mostró unos porcentajes superiores a los de aquellos que recibieron fórmula. El 18:0 fue el segundo ácido graso más importante por su cuantía, pero apenas mostró variaciones, a excepción de un menor contenido de este ácido graso en el grupo FAP en relación al LH a los 30-32 días. Para el 24:0 el descenso de sus valores con el tiempo sólo fue significativo en los grupos alimentados con fórmula, aunque también se apreció esta tendencia en el grupo LH.

Con respecto a los monoinsaturados, las únicas diferencias estadísticas se detectaron en el porcentaje de 16:1n-7, 18:1n-7 y 18:1n-9. Así, se pudo apreciar una disminución del 16:1n-7 a los 15-17 días para los grupos LH y FA y también un descenso de los porcentajes del 18:1n-7 en el grupo FAP y FA a los 30-32 días después del inicio de la alimentación. En el caso del 18:1n-9, éste experimentó un ascenso del 2% desde la segunda toma de muestra de sangre en los grupos alimentados con fórmula, siendo significativamente superiores a los mostrados por el grupo LH.

Dentro de los AGPI de la serie n-6 (tabla 44), el ácido linoleico experimentó un aumento significativo a los 15-17 días en los grupos alimentados con fórmula, aunque sus valores no fueron diferentes a los del grupo LH. En el caso del AA, se produjo un ligero descenso de sus valores desde el inicio de la alimentación hasta el final del estudio en los grupos LH y FA, siendo sólo significativo en este último. El grupo FAP mantuvo las proporciones encontradas al inicio del

estudio para este ácido graso.

Con respecto a la serie n-3, el ácido α-linolénico no se detectó en el grupo LH, sufrió un descenso de sus proporciones a lo largo del periodo de estudio en el grupo FAP y un aumento significativo para el grupo FA (tabla 45). El 22:6n-3 y el 22:5n-3 fueron los principales representantes de la serie y no mostraron importantes variaciones desde que se inició la alimentación. Sin embargo, el grupo FAP pareció presentar un mejor estado de DHA en el grupo de FAP en comparación con el resto de los grupos a los 15-17 días, hecho que no pudo comprobarse al mes después de iniciarse la alimentación.

El contenido en DMA 18:0 y 18:1n-9 fue superior en el grupo que recibió la fórmula suplementada con AGPI-CL a los 15-17 días y 30-32 días de iniciada la alimentación. La presencia de DMA en los fosfolípidos eritrocitarios fue mayor que la encontrada en el plasma como muestra la tabla 46.

Las tablas 47A y 47B presentan los principales índices obtenidos de los ácidos grasos en los lípidos eritrocitarios. Cabe destacar el porcentaje elevado de ácidos grasos saturados (50-60%) presentando el grupo LH un mayor contenido en éstos que los niños alimentados con fórmula desde las 2 semanas de alimentación. Por el contrario, el porcentaje de monoinsaturados fue mayor en los grupos FAP y FA que en el grupo LH prácticamente desde los 15-17 días de iniciarse el estudio (tabla 47A).

Por otro lado, tanto los AGPI-CL n-6 como los n-3 mayores de 18 átomos de carbono, no presentaron diferencias significativas ni con el tiempo ni con las dietas empleada en el estudio, y de la misma manera, la relación entre ellos (4:1) fue prácticamente invariable.

La relación entre el 18:2n-6 y el 20:4n-6 aumentó ligeramente, aunque de forma significativa a los 15-17 días después de iniciarse el estudio para los grupos alimentados con fórmula (tabla 47B). La relación entre el 22:5n-3 y el 22:6n-3 fue similar entre los grupos de alimentación a lo largo del estudio y tendió a aumentar ligeramente con el tiempo de alimentación en los tres grupos. Con respecto a los dimetilacetales, podemos observar que sus porcentajes fueron superiores en el grupo alimentado con FAP desde el inicio del estudio hasta los 30-32 días

en comparación con los otros grupos. Las escasas variaciones en el contenido en AGPI-CL apenas afectaron al índice de insaturación de los eritrocitos a lo largo del periodo de estudio, a excepción del grupo FAP cuyos valores fueron significativamente mayores que los del grupo LH a los 30-32 días de alimentación.

Tabla 42. *Perfil de ácidos grasos saturados de los lípidos totales del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	3.25 ± 0.63	3.27 ± 0.65	4.09 ± 1.39
12:0	FAP	1.95 ± 0.67	1.61 ± 0.25^{c1}	1.62 ± 0.16^{c1}
	FA	2.28 ± 0.69	2.50 ± 0.37	2.47 ± 0.41
	LH	2.19 ± 0.42	2.39 ± 0.44	2.91 ± 0.81
14:0	FAP	1.17 ± 0.18^{c1}	1.20 ± 0.13^{c2}	1.19 ± 0.09^{c2}
	FA	1.57 ± 0.26	1.56 ± 0.19	1.61 ± 0.19
	LH	23.45 ± 0.57	21.58 ± 0.70	21.27 ± 0.44^{a1}
16:0	FAP	20.69 ± 0.46^{c2}	19.36 ± 0.50^{c1}	18.44 ± 0.32^{a2c3}
	FA	20.86 ± 0.36^{c2}	19.45 ± 0.46	19.06 ± 0.39^{a1c2}
	LH	14.57 ± 1.01	15.92 ± 1.08	17.00 ± 1.15
18:0	FAP	13.31 ± 0.52	14.30 ± 0.57	13.85 ± 0.37^{c2}
	FA	14.56 ± 0.50	14.99 ± 0.67	15.24 ± 0.50
	LH	0.46 ± 0.04	0.48 ± 0.05	0.41 ± 0.03
20:0	FAP	0.54 ± 0.07	0.52 ± 0.06	0.54 ± 0.08
	FA	0.46 ± 0.04	0.44 ± 0.04	0.49 ± 0.03
	LH	1.31 ± 0.14	1.29 ± 0.08	1.25 ± 0.09
22:0	FAP	1.67 ± 0.06	1.53 ± 0.07	1.47 ± 0.08
	FA	1.58 ± 0.11	1.46 ± 0.09	1.42 ± 0.07
	LH	4.09 ± 0.45	4.84 ± 1.30	3.24 ± 0.35
24:0	FAP	4.41 ± 0.16	3.79 ± 0.12^{a2}	3.47 ± 0.14^{a3}
	FA	4.01 ± 0.17	3.55 ± 0.13	3.34 ± 0.18^{a1}

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 43. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de los lípidos totales del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.77 ± 0.10	0.46 ± 0.06^{a1}	0.40 ± 0.05^{a2}
16:1n-7	FAP	0.79 ± 0.13	0.39 ± 0.05	0.46 ± 0.14
	FA	0.92 ± 0.23	0.47 ± 0.05^{a1}	0.27 ± 0.01^{a2}
	LH	0.47 ± 0.04	0.37 ± 0.01	0.36 ± 0.04
16:1n-9	FAP	0.45 ± 0.04	0.47 ± 0.08	0.43 ± 0.06
	FA	0.53 ± 0.07	0.40 ± 0.02	0.48 ± 0.11
	LH	1.75 ± 0.18	1.43 ± 0.16	1.20 ± 0.18
18:1n-7	FAP	1.74 ± 0.16	1.48 ± 0.08	1.22 ± 0.09^{a2}
	FA	1.73 ± 0.09	1.35 ± 0.07^{a1}	1.34 ± 0.13^{a1}
	LH	11.07 ± 0.78	10.85 ± 0.37	10.63 ± 0.51
18:1n-9	FAP	9.89 ± 0.28	12.21 ± 0.31^{a3c1}	12.15 ± 0.24^{a3c2}
	FA	9.65 ± 0.40	12.13 ± 0.33^{a3}	12.49 ± 0.27^{a3c2}
	LH	0.17 ± 0.00	N.D.	0.29 ± 0.00
20:1n-9	FAP	0.16 ± 0.01	0.33 ± 0.04	0.35 ± 0.04
	FA	0.17 ± 0.02	0.38 ± 0.07	0.39 ± 0.02
	LH	N.D.	N.D.	N.D.
22:1n-9	FAP	N.D.	N.D.	N.D.
	FA	N.D.	0.35 ± 0.02	0.26 ± 0.00
	LH	2.87 ± 0.20	3.23 ± 0.51	2.79 ± 0.44
24:1n-9	FAP	3.62 ± 0.19	3.89 ± 0.26	4.30 ± 0.31
	FA	3.61 ± 0.35	3.32 ± 0.02	3.98 ± 0.22

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 44. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de los lípidos totales del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	4.94 ± 0.57	6.37 ± 0.34	6.76 ± 0.69
18:2n-6	FAP	4.55 ± 0.27	7.53 ± 0.25^{a3c1}	7.96 ± 0.18^{a3}
	FA	3.85 ± 0.23	7.15 ± 0.29^{a3}	7.67 ± 0.28^{a3}
	LH	0.16 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.21 ± 0.00
18:3n-6	FAP	0.40 ± 0.00	N.D.	N.D.
	FA	0.20 ± 0.07	0.33 ± 0.02	0.32 ± 0.00
	LH	0.22 ± 0.01	0.34 ± 0.06	0.40 ± 0.03^{a1}
20:2n-6	FAP	0.30 ± 0.09	0.42 ± 0.12	0.36 ± 0.07
	FA	0.47 ± 0.19	0.35 ± 0.05	0.51 ± 0.17
	LH	1.91 ± 0.24	1.64 ± 0.14	1.61 ± 0.25
20:3n-6	FAP	2.42 ± 0.65	1.76 ± 0.08	1.68 ± 0.09
	FA	1.84 ± 0.13	2.71 ± 0.91	1.88 ± 0.12
	LH	12.97 ± 1.00	12.67 ± 0.63	11.33 ± 1.18
20:4n-6	FAP	12.62 ± 2.54	13.41 ± 0.38	13.19 ± 0.29
	FA	14.41 ± 0.66	12.44 ± 0.44^{a1}	11.86 ± 0.42^{a2}
	LH	2.82 ± 0.26	2.61 ± 0.16	2.59 ± 0.29
22:4n-6	FAP	3.47 ± 0.15	3.47 ± 0.31	3.34 ± 0.23
	FA	3.26 ± 0.15	2.78 ± 0.13^{a1}	2.94 ± 0.13
	LH	1.11 ± 0.13	1.11 ± 0.06	0.98 ± 0.12
22:5n-6	FAP	1.31 ± 0.04	1.20 ± 0.05	1.07 ± 0.04^{a3}
	FA	1.43 ± 0.08^{c1}	1.14 ± 0.06^{a1}	1.09 ± 0.07^{a2}

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 45. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 de los lípidos totales del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.42 ± 0.00	N.D.	N.D.
18:3n-3	FAP	2.32 ± 1.06	1.48 ± 0.13	1.26 ± 0.15
	FA	2.09 ± 0.61	1.93 ± 0.46	2.75 ± 0.59^{d1}
	LH	N.D.	N.D.	0.50 ± 0.00
20:5n-3	FAP	0.40 ± 0.20	0.20 ± 0.04	0.41 ± 0.09
	FA	N.D.	0.37 ± 0.05^{d1}	0.28 ± 0.03
	LH	1.20 ± 0.21	1.35 ± 0.25	1.53 ± 0.21
22:5n-3	FAP	1.27 ± 0.16	1.30 ± 0.15	1.38 ± 0.16
	FA	1.11 ± 0.09	1.26 ± 0.12	1.49 ± 0.17
	LH	3.11 ± 0.34	2.79 ± 0.21	2.86 ± 0.37
22:6n-3	FAP	3.64 ± 0.12	3.37 ± 0.10^{c1}	3.31 ± 0.10
	FA	3.70 ± 0.10	3.08 ± 0.14^{a1}	2.99 ± 0.19^{a1}
	LH	0.54 ± 0.09	0.38 ± 0.00	0.26 ± 0.01
20:3n-9	FAP	0.64 ± 0.12	0.56 ± 0.09	0.45 ± 0.07
	FA	0.50 ± 0.04	0.47 ± 0.06	0.33 ± 0.02

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$.

Tabla 46. *Perfil de dimetilacetales de los lípidos totales del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
Dimetilacetal	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.67 ± 0.14	1.67 ± 0.09	1.59 ± 0.18
DMA16:0	FAP	1.80 ± 0.06	1.89 ± 0.06	1.90 ± 0.06
	FA	1.74 ± 0.06	1.60 ± 0.06^{d2}	1.69 ± 0.10
	LH	2.65 ± 0.40	2.11 ± 0.47	2.11 ± 0.33
DMA18:0	FAP	3.32 ± 0.15^{c1}	3.11 ± 0.16^{c2}	3.00 ± 0.13^{c2}
	FA	3.13 ± 0.18	1.66 ± 0.15^{a1}	2.62 ± 0.16^{c1}
	LH	0.54 ± 0.07	0.56 ± 0.06	0.70 ± 0.06
DMA18:1n-9	FAP	0.72 ± 0.09	1.00 ± 0.07^{c2}	1.28 ± 0.08^{a3c3}
	FA	0.75 ± 0.18	0.73 ± 0.06^{c1}	0.85 ± 0.07^{d3}
	LH	0.20 ± 0.04	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.00
DMA18:1n-7	FAP	0.27 ± 0.02	0.57 ± 0.07	0.90 ± 0.17^{a2}
	FA	0.48 ± 0.20	0.50 ± 0.25	0.60 ± 0.25

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 47A. *Indices de ácidos grasos de los lipidos totales del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	50.03 ± 1.82	51.00 ± 1.86	52.34 ± 3.66
SAT	FAP	43.80 ± 0.60^{c2}	42.72 ± 1.25^{c2}	41.08 ± 0.80^{c3}
	FA	46.20 ± 1.33	44.62 ± 1.50^{c1}	44.20 ± 1.15^{c1}
	LH	16.79 ± 0.82	16.29 ± 0.49	15.23 ± 0.71
MONO	FAP	17.30 ± 0.63	18.47 ± 0.51^{c1}	18.58 ± 0.42^{c3}
	FA	16.49 ± 0.51	17.69 ± 0.47	18.50 ± 0.47^{a1c3}
	LH	18.96 ± 1.52	18.07 ± 0.95	16.76 ± 1.85
n6>18C	FAP	26.78 ± 5.25	18.99 ± 1.23	19.51 ± 0.49
	FA	21.00 ± 0.87	19.21 ± 1.16	18.02 ± 0.59
	LH	4.31 ± 0.37	4.14 ± 0.21	4.46 ± 0.48
n3>18C	FAP	4.87 ± 0.23	4.62 ± 0.17	4.80 ± 0.16
	FA	4.81 ± 0.24	4.48 ± 0.16	4.52 ± 0.23
	LH	4.45 ± 0.23	4.43 ± 0.30	3.80 ± 0.26
n6/n3>	FAP	4.57 ± 0.26	4.26 ± 0.34	4.14 ± 0.19
	FA	4.42 ± 0.16	4.39 ± 0.35	4.14 ± 0.29

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grasos monoinsaturados. n-6>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n-3>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los AGPI n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 47B. *Indices de ácidos grasos de los lípidos totales del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.41 ± 0.08	0.51 ± 0.04	0.63 ± 0.06
LA/AA	FAP	0.31 ± 0.02	0.56 ± 0.02[a3]	0.61 ± 0.02[a3]
	FA	0.27 ± 0.02	0.58 ± 0.02[a3]	0.65 ± 0.03[a3]
	LH	0.42 ± 0.10	0.53 ± 0.14	0.61 ± 0.11
DPA/DHA	FAP	0.35 ± 0.05	0.40 ± 0.05	0.43 ± 0.06
	FA	0.30 ± 0.02	0.43 ± 0.05	0.53 ± 0.07[a1]
	LH	4.48 ± 0.71	4.02 ± 0.62	4.33 ± 0.61
SDMA	FAP	6.09 ± 0.25[c1]	6.45 ± 0.35[c3]	7.08 ± 0.33[c3]
	FA	5.98 ± 0.40[c1]	5.16 ± 0.32[d1]	5.24 ± 0.36[d2]
	LH	127.78 ± 6.49	124.46 ± 4.73	120.71 ± 10.86
UNID	FAP	161.69 ± 16.27	139.20 ± 3.80	143.06 ± 1.66[c2]
	FA	140.29 ± 4.68	137.52 ± 4.21	135.99 ± 2.99

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. DPA/DHA: Relación entre los ácidos grasos docosapentaenoico (22:5n-3) y docosahexaenoico. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Fracciones eritrocitarias

a) *Fosfatidilcolina*

Los ácidos grasos de la fosfatidilcolina se recogen en las tablas 48-52B. Esta fracción presentó un alto contenido en 16:0, del orden del 40% desde el inicio de la alimentación, el cual fue descendiendo significativamente a los 30-32 días para los grupos alimentados con fórmula (tabla 48). Además, el grupo de LH mostró una mayor proporción de 16:0 con respecto a los niños alimentados con FA y FAP. También cabe mencionar al ácido esteárico, el cual aumentó sus proporciones de forma significativa a los 30-32 días en todos los grupos de recién nacidos.

Con respecto a los monoinsaturados (tabla 49), podemos observar que el ácido palmitoleico descendió de forma apreciable a los 15-17 días en los grupos alimentados con fórmula y a los 30-32 días en todos los grupos de alimentación. En el caso del ácido oleico, éste incrementó sus proporcioens con el tiempo de alimentación en los grupos alimentados con fórmula en comparación con el grupo LH de forma que desde las 2 semanas de iniciada la alimentación se encontraron diferencias significativas entre el grupo LH y los otros dos para este ácido graso.

Los principales cambios en los AGPI n-6 de esta fracción fueron, por un lado, el aumento significativo de los porcentajes de linoleico desde los 15-17 días en los grupos de fórmula y a los 30-32 días en todos los grupos de alimentación, y por otro, la disminución del AA con el tiempo de alimentación sin existir diferencias entre dietas. El resto de AGPI-CL apenas presentaron variaciones importantes, si bien el 20:2n-6 mostró un aumento significativo a los 30-32 días en los tres grupos (tabla 50). El grupo FAP presentó un menor contenido de este ácido graso en relación al grupo LH al final del estudio.

Con respecto a la serie n-3 (tabla 51), podemos ver que el perfil de 22:6n-3 tendió a disminuir a lo largo del estudio especialmente en el grupo FA. El resto de AGPI-CL n-3 se encontraron en una escasa proporción, sin presentar variaciones importantes.

Las tablas 52A y 52B muestran los principales índices de ácidos grasos obtenidos en la fosfatidilcolina. Como podemos observar, los valores de los ácidos grasos saturados fueron similares a los detectados para los lípidos totales y no se apreciaron diferencias en relación a la edad postnatal (tabla 52A). Sin embargo, el porcentajes de saturados fue superior en el grupo LH en relación a los grupos de fórmula a los 30-32 días de la alimentación. Con respecto a los monoinsaturados, debemos destacar el descenso de los mismos en el grupo LH al mes de iniciarse el estudio, hecho que no ocurrió en los grupos alimentados con fórmulas.

Los AGPI-CL n-6 mayores de 18 átomos de carbono tendieron a disminuir a los 15-17 días en el grupo FA y a los 30-32 días en los dos grupos alimentados con fórmula. Los AGPI-CL n-3 presentaron un bajo contenido a lo largo del periodo de estudio, lo que originó unas altas relaciones de ácidos grasos n-6/n-3. No se apreciaron grandes variaciones en la relación n-6/n-3 aunque el grupo LH presentó valores inferiores, sin existir diferencias significativas. La relación entre 18:2n-6 y 20:4n-6 aumentó significativamente en las tres dietas desde el inicio de la alimentación (tabla 52B) y para el caso de la relación entre el 22:5n-3 y 22:6n-3 no se observaron variaciones importantes aunque el grupo LH presentó valores superiores para este índice a lo largo del periodo de estudio. Por último, el grado de insaturación de la fosfatidilcolina no se modificó con el tiempo de alimentación y tampoco se detectaron diferencias significativas con respecto a la dieta.

Tabla 48. *Perfil de ácidos grasos saturados de la fosfatidilcolina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.73 ± 0.60	0.63 ± 0.46	0.24 ± 0.04
12:0	FAP	0.16 ± 0.07	0.24 ± 0.09	N.D.
	FA	0.16 ± 0.10	0.33 ± 0.02	0.14 ± 0.00
	LH	0.93 ± 0.08	1.37 ± 0.40	1.18 ± 0.09
14:0	FAP	0.71 ± 0.06	0.71 ± 0.09	0.64 ± 0.08
	FA	0.69 ± 0.05	0.72 ± 0.05	0.67 ± 0.04
	LH	43.96 ± 1.00	41.98 ± 1.24	40.09 ± 1.37
16:0	FAP	41.50 ± 1.83	37.70 ± 0.86^{c1}	36.29 ± 0.80^{a1c2}
	FA	39.27 ± 1.99	38.52 ± 0.54^{a2}	36.69 ± 0.57^{a3c2}
	LH	10.76 ± 1.63	13.55 ± 1.51^{a2}	14.22 ± 0.55^{a3}
18:0	FAP	11.24 ± 0.60	12.50 ± 0.33	13.76 ± 0.33^{a2}
	FA	11.53 ± 0.83	11.99 ± 0.39	13.14 ± 0.42^{a1}
	LH	0.09 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02
20:0	FAP	0.15 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.03
	FA	0.14 ± 0.04	0.20 ± 0.03	0.22 ± 0.02
	LH	0.10 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.16 ± 0.01
22:0	FAP	0.13 ± 0.03	0.10 ± 0.01^{a1}	0.11 ± 0.03
	FA	0.12 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01
	LH	0.16 ± 0.03	0.13 ± 0.01	0.21 ± 0.03
24:0	FAP	0.22 ± 0.07	0.14 ± 0.01	0.44 ± 0.22
	FA	0.18 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.20 ± 0.03

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 49. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de la fosfatidilcolina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	2.59 ± 0.46	2.14 ± 0.73	0.92 ± 0.16^{a1}
16:1n-7	FAP	1.76 ± 0.19	0.87 ± 0.19^{a2}	0.65 ± 0.15^{a3}
	FA	1.82 ± 0.19	0.93 ± 0.19^{a2}	0.61 ± 0.16^{a3}
	LH	0.81 ± 0.06	0.51 ± 0.03^{a1}	0.63 ± 0.05
16:1n-9	FAP	1.13 ± 0.15	0.72 ± 0.13	0.72 ± 0.10
	FA	0.96 ± 0.13	0.94 ± 0.10	0.94 ± 0.06
	LH	4.28 ± 0.50	3.49 ± 0.30	2.97 ± 0.30^{a2}
18:1n-7	FAP	4.25 ± 0.20	3.35 ± 0.10^{a3}	2.99 ± 0.12^{a3}
	FA	4.35 ± 0.25	3.29 ± 0.38	2.94 ± 0.15
	LH	16.66 ± 1.10	16.98 ± 0.95	16.60 ± 0.86
18:1n-9	FAP	18.97 ± 0.93	21.36 ± 0.60^{c2}	21.50 ± 0.58^{c3}
	FA	18.97 ± 0.80	22.46 ± 0.30^{a2c3}	21.75 ± 0.32^{a1c3}
	LH	0.13 ± 0.01	0.25 ± 0.04	0.32 ± 0.05
20:1n-9	FAP	0.17 ± 0.02	0.38 ± 0.03	0.43 ± 0.04
	FA	0.18 ± 0.02	0.45 ± 0.05	0.59 ± 0.06
	LH	0.08 ± 0.04	N.D.	0.13 ± 0.03
24:1n-9	FAP	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.06 ± 0.00
	FA	0.07 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.12 ± 0.03

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 50. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de la fosfatidilcolina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	7.36 ± 0.91	10.25 ± 1.09	12.94 ± 1.08[a1]
18:2n-6	FAP	6.92 ± 0.50	12.25 ± 0.77[a3]	13.54 ± 0.65[a3]
	FA	7.23 ± 0.54	11.64 ± 0.50[a3]	12.79 ± 0.56[a3]
	LH	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.00
18:3n-6	FAP	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.01
	FA	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.17 ± 0.06
	LH	0.27 ± 0.02	0.41 ± 0.06	0.51 ± 0.03[a2]
20:2n-6	FAP	0.27 ± 0.02	0.36 ± 0.03[a2]	0.39 ± 0.02[a2c1]
	FA	0.30 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.44 ± 0.03[a3]
	LH	1.73 ± 0.31	1.41 ± 0.20	1.53 ± 0.19
20:3n-6	FAP	1.55 ± 0.11	1.54 ± 0.15	1.49 ± 0.11
	FA	1.90 ± 0.17	1.54 ± 0.09	1.73 ± 0.14
	LH	6.75 ± 1.10	4.80 ± 0.95	5.00 ± 0.78
20:4n-6	FAP	8.01 ± 0.57	5.08 ± 0.54[a2]	4.78 ± 0.43[a3]
	FA	9.58 ± 0.95	4.03 ± 0.37[a3]	4.26 ± 0.25[a2]
	LH	0.33 ± 0.06	0.24 ± 0.04	0.31 ± 0.06
22:4n-6	FAP	0.40 ± 0.04	0.35 ± 0.04[c1]	0.36 ± 0.03
	FA	0.49 ± 0.06	0.25 ± 0.02[d1]	0.34 ± 0.03
	LH	0.34 ± 0.06	0.22 ± 0.03	0.23 ± 0.04
22:5n-6	FAP	0.37 ± 0.10	0.34 ± 0.09	0.30 ± 0.10
	FA	0.42 ± 0.07	0.26 ± 0.05[a2]	0.31 ± 0.08

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 51. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 de la fosfatidilcolina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.09 ± 0.00	N.D.	N.D.
18:3n-3	FAP	N.D.	0.09 ± 0.00	0.10 ± 0.01
	FA	0.13 ± 0.00	0.23 ± 0.15	0.21 ± 0.10
	LH	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.14 ± 0.01[a1]
20:5n-3	FAP	0.17 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.01
	FA	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.18 ± 0.06
	LH	0.19 ± 0.08	0.15 ± 0.04	0.32 ± 0.07
22:5n-3	FAP	0.15 ± 0.04	0.21 ± 0.07	0.19 ± 0.05
	FA	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.04	0.17 ± 0.03
	LH	0.69 ± 0.21	0.43 ± 0.08	0.56 ± 0.16
22:6n-3	FAP	0.69 ± 0.08	0.53 ± 0.08	0.54 ± 0.07
	FA	0.90 ± 0.10	0.37 ± 0.05[a3]	0.46 ± 0.05[a2]
	LH	0.39 ± 0.08	0.21 ± 0.03	0.15 ± 0.00
20:3n-9	FAP	0.31 ± 0.05	0.24 ± 0.03	0.23 ± 0.03
	FA	0.33 ± 0.06	0.28 ± 0.03	0.24 ± 0.02

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 52A. *Indices de ácidos grasos de la fosfatidilcolina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		inicio de la alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	57.83 ± 1.87	59.19 ± 2.90	57.83 ± 1.47
SAT	FAP	55.54 ± 1.63	52.91 ± 1.16	52.81 ± 1.02^{c2}
	FA	53.39 ± 1.67	49.36 ± 3.82	52.40 ± 0.81^{c2}
	LH	24.40 ± 1.46	23.27 ± 0.79	21.00 ± 1.00^{a1}
MONO	FAP	26.14 ± 1.24	26.61 ± 0.70	26.06 ± 0.68^{c2}
	FA	25.87 ± 1.05	32.65 ± 4.50	26.94 ± 0.44^{c3}
	LH	9.25 ± 1.48	6.67 ± 1.31	7.58 ± 1.01
n6>18C	FAP	10.44 ± 0.72	7.46 ± 0.74	7.11 ± 0.57^{a2}
	FA	12.39 ± 1.22	6.30 ± 0.43^{a3}	6.96 ± 0.40^{a3}
	LH	0.73 ± 0.21	0.62 ± 0.06	0.83 ± 0.20
n3>18C	FAP	0.80 ± 0.10	0.69 ± 0.11	0.68 ± 0.10
	FA	1.03 ± 0.12	0.48 ± 0.08	0.65 ± 0.09
	LH	15.44 ± 2.39	12.27 ± 0.76	10.33 ± 1.26
n6/n3>	FAP	15.10 ± 1.37	13.99 ± 1.90	13.30 ± 1.66
	FA	13.83 ± 1.03	16.04 ± 1.70	12.50 ± 1.31

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grasos monoinsaturados. n6>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n3>18C: Suma de los AGPI de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los AGPI n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 52B. *Indices de ácidos grasos de la fosfatidilcolina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		inicio de la alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.26 ± 0.26	2.63 ± 0.56	2.89 ± 0.47[a1]
LA/AA	FAP	0.91 ± 0.08	2.67 ± 0.24[a3]	3.03 ± 0.19[a3]
	FA	0.94 ± 0.24	3.26 ± 0.44[a3]	3.09 ± 0.17[a2]
	LH	0.18 ± 0.05	0.56 ± 0.32	0.61 ± 0.22
DPA/DHA	FAP	0.20 ± 0.06	0.41 ± 0.15	0.37 ± 0.13
	FA	0.12 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.35 ± 0.05[a2]
	LH	0.69 ± 0.08	0.63 ± 0.14	0.52 ± 0.13
SDMA	FAP	0.83 ± 0.05	0.80 ± 0.07	0.68 ± 0.07
	FA	0.82 ± 0.06	0.64 ± 0.05	0.53 ± 0.05
	LH	80.53 ± 6.52	72.51 ± 8.00	79.69 ± 5.86
UNID	FAP	85.78 ± 3.91	83.35 ± 4.16	83.73 ± 3.49
	FA	94.39 ± 5.56	79.38 ± 2.54	83.00 ± 2.59

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. DPA/DHA: Relación entre los ácidos grasos 22:5n-3 y 22:6n-3. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

b) *Fosfatidiletanolamina*

Los datos acerca de la composición en ácidos grasos de la fosfatidiletanolamina de l eritrocito se recogen en las tablas 53-58B y los principales índices obtenidos para esta fracción en las tablas 60 y 61. La principal característica de esta fracción fue la de presentar un alto contenido de AGPI-CL de más 18 átomos de carbono y de dimetilacetales (15-18%).

En el caso de los ácidos grasos saturados debemos destacar el ácido palmítico y el esteárico con un 17-20% y 8-11% respectivamente, los cuales permanecieron casi invariables a lo largo del estudio. El grupo LH presentó un mayor porcentaje de 16:0 también en esta fracción. Con respecto a los monoinsaturados, se produjo un aumento significativo del 18:1n-9 desde el inicio del estudio para los grupos alimentados con fórmula. El grupo LH tendió a presentar porcentajes inferiores de este ácido graso, encontrándose diferencias significativas entre los grupos LH y FA a los 30-32 días.

La tabla 55 muestra los distintos AGPI-CL n-6 entre los que cabe destacar el aumento del 18:2n-6 desde los 15-17 días en todos los grupos de alimentación. El contenido en 20:4n-6 se mantuvo prácticamente constante a lo largo del periodo estudiado, sin existir diferencias entre dietas. El 22:4n-6 se encontró en una proporción importante en esta fracción y tampoco se observaron diferencias entre los tres grupos de alimentación.

Con respecto a la serie n-3 (tabla 56), el más representativo fue el 22:6n-3, el cual mantuvo sus proporciones prácticamente constantes (3%) desde el inicio de la alimentación hasta los 30-32 días, excepto para el grupo FA en el que descendió significativamente. También cabe mencionar que el precursor de la serie n-3, el 18:3n-3, no fue detectado y el resto de los ácidos grasos apenas mostraron variaciones importantes.

En la tabla 57, podemos observar los altos porcentajes de dimetilacetales detectados en esta fracción. Destacó el alto contenido del DMA 16:0 y DMA 18:0 (5-8%) y el aumento del DMA 18:1n-9 y DMA 18:1n-7 desde los 15-17 días en el grupo FAP con respecto a los grupos LH y FA.

Tabla 53. *Perfil de ácidos grasos saturados de la fosfatidiletanolamina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH). fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de ali. itación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.94 ± 0.58	0.92 ± 0.62	0.40 ± 0.11
12:0	FAP	2.63 ± 1.81	0.20 ± 0.11	0.20 ± 0.08
	FA	0.31 ± 0.09	0.22 ± 0.08	0.30 ± 0.00
	LH	1.08 ± 0.44	1.21 ± 0.49	0.87 ± 0.21
14:0	FAP	0.76 ± 0.27	1.61 ± 0.08	0.50 ± 0.04
	FA	0.57 ± 0.13	0.58 ± 0.93	0.50 ± 0.06
	LH	21.11 ± 1.40	21.13 ± 1.40	19.60 ± 1.07
16:0	FAP	19.58 ± 0.88	17.64 ± 0.86	15.88 ± 0.73[a2c1]
	FA	17.66 ± 0.65	17.94 ± 0.81	16.73 ± 0.75
	LH	9.38 ± 1.49	11.56 ± 2.14	9.81 ± 0.94
18:0	FAP	8.60 ± 0.65	8.35 ± 0.51	8.24 ± 0.57
	FA	8.01 ± 0.47	8.81 ± 0.44	8.48 ± 0.28
	LH	0.32 ± 0.17	0.52 ± 0.31	0.20 ± 0.01
20:0	FAP	0.24 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.23 ± 0.03
	FA	0.22 ± 0.04	0.29 ± 0.04	0.29 ± 0.05
	LH	0.45 ± 0.00	0.14 ± 0.00	N.D.
22:0	FAP	0.20 ± 0.04	N.D.	0.14 ± 0.00
	FA	0.38 ± 0.20	0.32 ± 0.17	N.D.
	LH	1.11 ± 0.75	0.47 ± 0.27	0.43 ± 0.07
24:0	FAP	0.62 ± 0.17	0.46 ± 0.20	0.27 ± 0.05
	FA	0.27 ± 0.06	0.51 ± 0.36	0.17 ± 0.07

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c:Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$.

Tabla 54. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de la fosfatidiletanolamina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.90 ± 0.38	0.52 ± 0.12	0.47 ± 0.10
16:1n-7	FAP	0.43 ± 0.11	0.34 ± 0.08	0.37 ± 0.16
	FA	0.35 ± 0.08	0.71 ± 0.32	0.46 ± 0.27
	LH	0.74 ± 0.06	0.61 ± 0.12	0.60 ± 0.07
16:1n-9	FAP	0.71 ± 0.12	0.66 ± 0.10	0.44 ± 0.04
	FA	0.62 ± 0.09	0.67 ± 0.13	0.65 ± 0.13
	LH	1.48 ± 0.20	1.20 ± 0.13	1.32 ± 0.14
18:1n-7	FAP	1.55 ± 0.17	1.34 ± 0.09	1.43 ± 0.15
	FA	1.43 ± 0.11	1.28 ± 0.12	1.35 ± 0.11
	LH	13.54 ± 0.98	13.97 ± 0.69	15.75 ± 0.74
18:1n-9	FAP	13.18 ± 0.55	16.90 ± 0.86^{a2}	17.68 ± 0.83^{a3}
	FA	12.43 ± 0.57	18.50 ± 0.75^{a3}	19.08 ± 0.60^{a3c1}
	LH	0.29 ± 0.04	0.34 ± 0.06	0.30 ± 0.10
20:1n-9	FAP	0.28 ± 0.04	0.39 ± 0.03	0.44 ± 0.04
	FA	0.29 ± 0.03	0.41 ± 0.04	0.48 ± 0.04
	LH	N.D.	N.D.	N.D.
22:1n-9	FAP	0.38 ± 0.08	0.16 ± 0.03	N.D.
	FA	0.09 ± 0.01	N.D.	0.37 ± 0.30
	LH	1.13 ± 0.00	0.30 ± 0.00	N.D.
24:1n-9	FAP	0.52 ± 0.14	0.55 ± 0.24	0.13 ± 0.03
	FA	0.32 ± 0.00	0.74 ± 0.65	0.29 ± 0.22

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 55. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 de la fosfatidiletanolamina en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	2.20 ± 0.35	3.21 ± 0.44^{a2}	3.85 ± 0.40^{a1}
18:2n-6	FAP	2.10 ± 0.21	3.44 ± 0.17^{a3}	4.53 ± 0.26^{a3b2}
	FA	1.97 ± 0.13	3.63 ± 0.26^{a3}	4.55 ± 0.31^{a3b1}
	LH	0.36 ± 0.11	0.44 ± 0.12	0.49 ± 0.10
18:3n-6	FAP	0.48 ± 0.12	0.54 ± 0.09	0.51 ± 0.12
	FA	0.54 ± 0.11	0.45 ± 0.05	0.61 ± 0.11
	LH	0.17 ± 0.02	0.22 ± 0.03^{a1}	0.32 ± 0.02^{a3b1}
20:2n-6	FAP	0.23 ± 0.03	0.27 ± 0.01	0.33 ± 0.02^{a2}
	FA	0.21 ± 0.12	0.29 ± 0.02	0.34 ± 0.02^{a2}
	LH	1.81 ± 0.31	1.85 ± 0.34	1.77 ± 0.33
20:3n-6	FAP	2.40 ± 0.33	2.17 ± 0.23	2.06 ± 0.27
	FA	2.71 ± 0.35	2.04 ± 0.13	2.38 ± 0.27
	LH	16.15 ± 1.79	16.91 ± 1.15	16.67 ± 1.19
20:4n-6	FAP	18.14 ± 1.13	17.42 ± 1.17	17.71 ± 1.04
	FA	20.25 ± 0.92	16.89 ± 0.87	17.08 ± 1.07
	LH	4.84 ± 0.59	4.23 ± 0.46	4.55 ± 0.36
22:4n-6	FAP	5.37 ± 0.32	4.48 ± 0.38	4.38 ± 0.37
	FA	5.82 ± 0.34	4.22 ± 0.27^{a2}	4.35 ± 0.25^{a2}
	LH	1.08 ± 0.17	0.91 ± 0.14	0.84 ± 0.11
22:5n-6	FAP	1.06 ± 0.12	0.96 ± 0.09	0.68 ± 0.08^{a1}
	FA	1.29 ± 0.11	0.89 ± 0.10	0.88 ± 0.10

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 56. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 de la fosfatidiletanolamina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.09 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.25 ± 0.03
20:5n-3	FAP	0.20 ± 0.08	0.23 ± 0.05	0.30 ± 0.03
	FA	0.14 ± 0.02	0.26 ± 0.04	0.34 ± 0.05
	LH	0.65 ± 0.16	0.89 ± 0.20	1.24 ± 0.22[a1]
22:5n-3	FAP	0.68 ± 0.12	0.68 ± 0.13	1.09 ± 0.19
	FA	0.72 ± 0.08	0.84 ± 0.11	1.10 ± 0.16
	LH	3.51 ± 0.60	3.16 ± 0.52	3.45 ± 0.43
22:6n-3	FAP	4.32 ± 0.38	3.61 ± 0.39	3.69 ± 0.33
	FA	4.85 ± 0.32	3.37 ± 0.29[a2]	3.23 ± 0.22[a2]
	LH	0.89 ± 0.15	0.70 ± 0.16	0.50 ± 0.09
20:3n-9	FAP	0.78 ± 0.14	0.58 ± 0.10	0.47 ± 0.06
	FA	0.83 ± 0.07	0.56 ± 0.05	0.46 ± 0.05[a2]

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$.

Tabla 57. *Perfil de dimetilacetales de la fosfatidiletanolamina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
Dimetilacetal	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	5.31 ± 0.59	4.67 ± 0.67	4.90 ± 0.35
DMA16:0	FAP	4.59 ± 0.49	4.76 ± 0.39	4.86 ± 0.47
	FA	4.85 ± 0.29	4.43 ± 0.25	4.27 ± 0.32
	LH	8.69 ± 1.40	8.26 ± 0.89	7.76 ± 0.61
DMA18:0	FAP	9.23 ± 0.94	8.07 ± 0.76	7.84 ± 0.78
	FA	9.93 ± 0.69	8.48 ± 0.47^{a1}	7.39 ± 0.62^{a2}
	LH	1.97 ± 0.16	1.59 ± 0.21	1.99 ± 0.21
DMA18:1n-9	FAP	1.72 ± 0.12	2.66 ± 0.27^{a2c1}	3.70 ± 0.29^{a3b1c2}
	FA	1.78 ± 0.11	2.23 ± 0.11	2.78 ± 0.30^{a2}
	LH	0.76 ± 0.11	0.56 ± 0.07	0.54 ± 0.06
DMA18:1n-7	FAP	0.62 ± 0.07	1.32 ± 0.19^{a1c2}	2.04 ± 0.24^{a3b1c3}
	FA	0.68 ± 0.04	0.59 ± 0.03^{d2}	0.74 ± 0.18^{d3}

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 58A. *Indices de ácidos grasos de la fosfatidiletanolamina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	34.52 ± 3.92	37.09 ± 4.71	32.58 ± 2.40
SAT	FAP	31.43 ± 1.84	28.75 ± 1.68	26.14 ± 1.48
	FA	27.79 ± 1.29	29.05 ± 1.21	26.47 ± 5.68
	LH	17.23 ± 1.27	16.67 ± 0.93	18.60 ± 0.77
MONO	FAP	16.26 ± 0.73	19.87 ± 1.03[a1]	20.16 ± 0.90[a2]
	FA	15.03 ± 0.77	21.41 ± 0.97[a3]	21.80 ± 0.61[a3]
	LH	23.77 ± 2.70	23.62 ± 1.85	24.14 ± 1.77
n6>18C	FAP	27.16 ± 1.72	25.19 ± 1.66	24.66 ± 1.45
	FA	30.24 ± 1.49	24.29 ± 1.29	24.96 ± 1.60
	LH	4.18 ± 0.67	4.09 ± 0.48	4.83 ± 0.52
n3>18C	FAP	5.06 ± 0.45	4.41 ± 0.47	5.01 ± 0.47
	FA	5.57 ± 0.41	4.39 ± 0.38	4.56 ± 0.40
	LH	6.09 ± 0.49	6.00 ± 0.50	5.15 ± 0.34
n6/n3>	FAP	5.63 ± 0.27	6.13 ± 0.40	5.22 ± 0.28
	FA	5.63 ± 0.29	5.79 ± 0.35	5.64 ± 0.27

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los AG monoinsaturados. n6>18C: Suma de los ácidos grasos de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n3>18C: Suma de los ácidos grasos de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los ácidos grasos de las series n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 58B. *Indices de ácidos grasos de la fosfatidiletanolamina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.15 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.25 ± 0.04^{a1}
LA/AA	FAP	0.13 ± 0.02	0.21 ± 0.02^{a2}	0.27 ± 0.02^{a3}
	FA	0.10 ± 0.01	0.22 ± 0.02^{a2}	0.28 ± 0.02^{a3}
	LH	0.20 ± 0.06	0.34 ± 0.12	0.40 ± 0.09^{a1}
DPA/DHA	FAP	0.17 ± 0.03	0.20 ± 0.04	0.29 ± 0.04^{a2b1}
	FA	0.14 ± 0.01	0.26 ± 0.04	0.33 ± 0.04^{a2}
	LH	16.33 ± 2.39	13.61 ± 2.53	14.49 ± 1.18
SDMA	FAP	15.99 ± 1.63	16.59 ± 1.58	18.03 ± 1.82
	FA	17.25 ± 1.07	15.74 ± 0.76	15.17 ± 1.32
	LH	146.19 ± 13.59	145.52 ± 10.37	153.94 ± 9.07
UNID	FAP	163.28 ± 8.91	158.62 ± 8.68	163.39 ± 7.47
	FA	178.00 ± 7.25	155.24 ± 6.54	161.39 ± 7.29

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. DPA/DHA: Relación entre los ácidos grasos 22:5n-3 y 22:6n-3. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

c) *Fosfatidilserina y fosfatidilinositol*

Estas fracciones se caracterizaron por presentar altas proporciones de ácidos grasos saturados debido al ácido esteárico (18:0) que aporta más del 50% del total a lo largo del periodo en estudio, y por carecer de 16:1n-7, de ácidos grasos monoinsaturados de cadena muy larga y de ácido linolénico.

Los perfiles de ácidos grasos saturados no se modificaron a lo largo del estudio. El grupo LH tendió a presentar proporciones superiores de 16:0 y 18:0 (tabla 59). El resto de los saturados se hallaron en escasa cuantía y algunos no fueron detectados.

La tabla 60 muestra el contenido de ácidos grasos monoinsaturados, de los que merece la pena destacar el aumento significativo del ácido oleico en los grupos alimentados con fórmula a los 15-17 días de iniciarse el estudio.

Con respecto a los AGPI-CL de la serie n-6 (tabla 61), el linoleico apenas superó el 2% del total de ácidos grasos y el AA mantuvo sus proporciones alrededor del 15% durante el periodo de estudio, sin apreciarse variaciones importantes. Con respecto a los AGPI-CL n-3, el 18:3n-3 no fue detectado y en el ácido graso mayoritario fue el DHA, cuyos porcentajes se modificaron poco con el tiempo de alimentación y fueron similares para las tres dietas (tabla 62).

Tabla 59. *Perfil de ácidos grasos saturados del fosfatidilinositol y fosfatidilserina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.34 ± 0.08	0.33 ± 0.01	0.50 ± 0.12
12:0	FAP	N.D.	N.D.	1.70 ± 0.00
	FA	0.56 ± 0.16	0.30 ± 0.06	0.60 ± 0.17
	LH	1.05 ± 0.17	0.91 ± 0.09	1.30 ± 0.27
14:0	FAP	0.95 ± 0.13	0.96 ± 0.10	1.06 ± 0.21
	FA	1.45 ± 0.32	1.35 ± 0.16	0.97 ± 0.14
	LH	8.80 ± 0.61	9.18 ± 1.26	9.35 ± 0.91
16:0	FAP	8.02 ± 0.56	7.55 ± 0.36	7.47 ± 0.95
	FA	8.75 ± 1.22	9.58 ± 0.80	7.52 ± 0.54
	LH	53.84 ± 3.19	57.84 ± 5.09	55.60 ± 2.16
18:0	FAP	55.52 ± 1.62	54.09 ± 1.67	51.61 ± 1.40
	FA	52.80 ± 1.19	51.25 ± 1.32	51.69 ± 1.60
	LH	0.47 ± 0.04	0.69 ± 0.08	0.50 ± 0.05
20:0	FAP	0.65 ± 0.06	0.66 ± 0.06	0.76 ± 0.05
	FA	0.55 ± 0.08	0.60 ± 0.06	1.88 ± 1.25
	LH	0.73 ± 0.00	N.D.	N.D.
24:0	FAP	0.32 ± 0.08	0.25 ± 0.05	0.22 ± 0.03
	FA	0.28 ± 0.05	0.13 ± 0.00	N.D.

Los resultados se expresan como media ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14.

Tabla 60. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados del fosfatidilinositol y fosfatidilserina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.07 ± 0.12	0.98 ± 0.07	0.95 ± 0.08
16:1n-9	FAP	1.14 ± 0.14	1.15 ± 0.15	0.99 ± 0.60
	FA	1.21 ± 0.21	1.36 ± 0.26	3.17 ± 2.07
	LH	1.11 ± 0.14	0.98 ± 0.15	0.77 ± 0.10
18:1n-7	FAP	0.78 ± 0.08	0.73 ± 0.08	0.71 ± 0.07
	FA	0.84 ± 0.06	0.96 ± 0.12	3.06 ± 2.25
	LH	6.36 ± 0.34	7.30 ± 1.88	7.09 ± 0.68
18:1n-9	FAP	5.47 ± 0.41	7.99 ± 0.41[a3]	8.13 ± 0.38[a3]
	FA	5.71 ± 0.31	10.23 ± 1.16[a2]	8.81 ± 0.78
	LH	0.23 ± 0.03	0.31 ± 0.00	0.26 ± 0.03
20:1n-9	FAP	0.21 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.33 ± 0.03
	FA	0.19 ± 0.02	0.31 ± 0.04	0.36 ± 0.03

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 61. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 del fosfatidilinositol y fosfatidilserina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	1.22 ± 0.12	2.25 ± 0.94	1.85 ± 0.22
18:2n-6	FAP	1.37 ± 0.15	1.66 ± 0.10	2.03 ± 0.19[a2]
	FA	1.19 ± 0.06	2.21 ± 0.41	2.02 ± 0.21
	LH	0.20 ± 0.02	0.50 ± 0.30	0.32 ± 0.12
20:2n-6	FAP	0.22 ± 0.04	0.24 ± 0.02	0.38 ± 0.09
	FA	0.17 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.31 ± 0.04
	LH	2.50 ± 0.36	1.88 ± 0.44	2.11 ± 0.30
20:3n-6	FAP	2.36 ± 0.25	2.24 ± 0.19	2.16 ± 0.22
	FA	2.46 ± 0.24	2.05 ± 0.18	2.40 ± 0.20
	LH	14.06 ± 2.11	11.81 ± 2.59	12.99 ± 1.83
20:4n-6	FAP	14.93 ± 1.08	15.38 ± 1.20	16.13 ± 1.43
	FA	15.49 ± 1.36	13.31 ± 1.03	15.55 ± 1.19
	LH	2.57 ± 0.38	1.96 ± 0.61	2.03 ± 0.31
22:4n-6	FAP	2.47 ± 0.29	2.19 ± 0.26	2.79 ± 0.33
	FA	2.79 ± 0.27	1.91 ± 0.25[a1]	2.35 ± 0.19
	LH	1.54 ± 0.30	1.22 ± 0.35	0.89 ± 0.18
22:5n-6	FAP	1.27 ± 0.14	1.07 ± 0.15	1.08 ± 0.14
	FA	1.58 ± 0.19	1.21 ± 0.16	2.22 ± 1.14

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$.

Tabla 62. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-9 del fosfatidilinositol y fosfatidilserina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.43 ± 0.04	0.42 ± 0.07	0.75 ± 0.19
22:5n-3	FAP	0.47 ± 0.10	0.56 ± 0.10	1.05 ± 0.16^{a2}
	FA	0.34 ± 0.07	0.51 ± 0.08	1.54 ± 0.68
	LH	2.74 ± 0.56	1.92 ± 0.66	2.14 ± 0.45
22:6n-3	FAP	3.12 ± 0.41	2.52 ± 0.39	3.03 ± 0.34
	FA	3.39 ± 0.42	2.30 ± 0.33	2.55 ± 0.26
	LH	0.56 ± 0.13	0.65 ± 0.17	0.30 ± 0.02
20:3n-9	FAP	0.47 ± 0.07	0.45 ± 0.05	0.49 ± 0.04
	FA	0.55 ± 0.06	0.37 ± 0.04^{a1}	0.35 ± 0.02^{d1}

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. d: Diferencia significativa vs FAP. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$.

Tabla 63A. *Indices de ácidos grasos del fosfatidilinositol y fosfatidilserina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	65.48 ± 3.60	69.46 ± 5.95	67.93 ± 2.78
SAT	FAP	66.03 ± 1.92	64.29 ± 1.96	61.99 ± 2.42
	FA	64.80 ± 2.09	63.72 ± 1.30	58.22 ± 3.99
	LH	9.01 ± 0.38	8.93 ± 2.02	9.05 ± 0.79
MONO	FAP	7.65 ± 0.52	9.92 ± 0.52[a1]	9.97 ± 0.48[a2]
	FA	7.84 ± 0.53	12.42 ± 1.06[a2]	14.98 ± 3.97
	LH	20.77 ± 2.97	16.93 ± 3.90	18.13 ± 2.44
n6>18C	FAP	21.08 ± 1.64	20.91 ± 1.70	22.12 ± 2.00
	FA	21.94 ± 0.94	18.68 ± 1.52	20.99 ± 1.53
	LH	3.02 ± 0.64	2.17 ± 0.74	2.89 ± 0.61
n3>18C	FAP	3.45 ± 0.47	2.91 ± 0.47	3.85 ± 0.49
	FA	3.75 ± 0.50	2.70 ± 0.40	3.65 ± 0.52
	LH	7.56 ± 0.71	10.03 ± 2.17	6.65 ± 0.39
n6/n3>	FAP	6.92 ± 0.60	8.39 ± 0.79	7.02 ± 0.66
	FA	6.61 ± 0.54	8.05 ± 0.69	6.89 ± 0.74

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. SAT: Suma de los ácidos grasos saturados. MONO: Suma de los ácidos grasos monoinsaturados. n6>18C: Suma de los ácidos grasos de más de 18 átomos de carbono de la serie n-6. n3>18C: Suma de los ácidos grasos de más de 18 átomos de carbono de la serie n-3. n6/n3>: Relación entre los ácidos grasos de las series n-6 y n-3 de más de 18 átomos de carbono. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$.

Tabla 63B. *Indices de ácidos grasos del fosfatidilinositol y fosfatidilserina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.09 ± 0.01	0.23 ± 0.10	0.16 ± 0.02
LA/AA	FAP	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.15 ± 0.03
	FA	0.09 ± 0.01	0.20 ± 0.07	0.14 ± 0.02
	LH	0.13 ± 0.01	0.23 ± 0.09	0.38 ± 0.79
DPA/DHA	FAP	0.14 ± 0.02	0.22 ± 0.06	0.31 ± 0.48[a3b1]
	FA	0.13 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.33 ± 0.05[a1]
	LH	0.48 ± 0.08	0.33 ± 0.00	0.45 ± 0.05
SDMA	FAP	0.43 ± 0.06	0.58 ± 0.10	0.44 ± 0.04
	FA	0.40 ± 0.05	0.42 ± 0.04	1.15 ± 0.70
	LH	113.33 ± 15.68	93.20 ± 21.20	101.07 ± 12.88
UNID	FAP	116.11 ± 8.87	114.13 ± 8.97	123.45 ± 10.79
	FA	121.20 ± 10.09	107.11 ± 7.26	124.10 ± 8.59

Los resultados se expresan como media ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. LA/AA: Relación entre los ácidos grasos linoleico y araquidónico. DPA/DHA: Relación entre los ácidos grasos 22:5n-3 y 22:6n-3. SDMA: Suma de los dimetilacetales. UNID: Indice de insaturación. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. 1: $p<0.05$. 3: $p<0.001$.

d) *Esfingomielinas*

La composición en ácidos grasos de las esfingomielinas se expone en las tablas 64, 65 y 66. Esta fracción se caracterizó por presentar un alto contenido en ácidos grasos saturados y monoinsaturados, tales como el 16:0, 20:0, 22:0, 24:0 y 24:1n-9, lo que representa más del 50% del total de los ácidos grasos y por mostrar un bajo contenido de AGPI-CL y carecer de dimetilacetales.

Con respecto a las variaciones más importantes en los ácidos grasos saturados, tan sólo podemos observar una tendencia al aumento del 22:0 y un descenso significativo de los porcentajes del 24:0 con el tiempo en los grupos alimentados con fórmula a los 30-32 días. En el resto de los saturados, los porcentajes se mantuvieron a lo largo del periodo de estudio y no se apreciaron diferencias entre dietas (tabla 64).

El 24:1n-9 fue el monoinsaturado mayoritario (13-20%), cuyo porcentaje se fue incrementando de forma significativa para el grupo de FAP a los 30-32 días después del inicio del estudio, aunque no se apreciaron diferencias entre dietas.

Los AGPI-CL tanto de la serie n-3 como de la serie n-6 se recogen en la tabla 66. Destaca la ausencia de 20:4n-6 y casi de 22:6n-3. Sí se encontraron cantidades apreciables de 22:5n-6 y 22:5n-3 aunque no existieron diferencias entre dietas para ambos ácidos grasos a lo largo del periodo de estudio.

En las figuras 13, 14, 15, 16 y 17 se recogen los datos más destacables de la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos totales de los eritrocitos y dos de sus principales fracciones, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina.

Tabla 64. *Perfil de ácidos grasos saturados de la esfingomielina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A.Graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.35 ± 0.13	1.06 ± 0.69	0.44 ± 0.03
12:0	FAP	0.37 ± 0.00	0.53 ± 0.10	0.65 ± 0.22
	FA	0.27 ± 0.01	0.56 ± 0.15	0.98 ± 0.75
	LH	1.71 ± 0.33	2.02 ± 0.41	1.76 ± 0.14
14:0	FAP	0.96 ± 0.11^{c1}	1.40 ± 0.15^{a1}	1.05 ± 0.06^{c2}
	FA	1.18 ± 0.11	2.09 ± 0.82	1.36 ± 0.11
	LH	28.40 ± 1.22	27.89 ± 1.32	26.80 ± 0.63
16:0	FAP	25.98 ± 0.72	26.81 ± 0.73	25.49 ± 0.49
	FA	25.79 ± 0.95	25.54 ± 0.90	26.15 ± 0.79
	LH	12.78 ± 1.15	11.83 ± 1.27	10.60 ± 0.36
18:0	FAP	11.57 ± 0.53	10.86 ± 0.37	10.57 ± 0.58
	FA	11.69 ± 0.47	10.82 ± 0.47	10.91 ± 0.59
	LH	2.18 ± 0.15	2.53 ± 0.25	2.42 ± 0.21
20:0	FAP	2.54 ± 0.14	2.80 ± 0.09	2.67 ± 0.09
	FA	2.29 ± 0.10	2.72 ± 0.11	2.82 ± 0.12
	LH	8.18 ± 0.57	9.28 ± 0.22	9.69 ± 0.32
22:0	FAP	8.65 ± 0.31	8.92 ± 0.26	9.06 ± 0.20
	FA	8.49 ± 0.24	8.90 ± 0.18	8.86 ± 0.32
	LH	22.71 ± 1.15	22.79 ± 0.74	23.21 ± 0.74
24:0	FAP	26.14 ± 0.77	22.92 ± 0.74^{a1}	21.97 ± 0.54^{a3}
	FA	24.76 ± 0.62	23.26 ± 0.55	21.17 ± 0.62^{a3}

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p<0.05$. 2: $p<0.01$. 3: $p<0.001$.

Tabla 65. *Perfil de ácidos grasos monoinsaturados de la esfingomielina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.39 ± 0.08	0.53 ± 0.13	0.47 ± 0.09
16:1n-9	FAP	0.51 ± 0.08	0.66 ± 0.10	0.49 ± 0.07
	FA	0.48 ± 0.06	0.51 ± 0.10	0.63 ± 0.13
	LH	N.D.	0.32 ± 0.20	N.D.
18:1n-7	FAP	0.26 ± 0.09	0.38 ± 0.24	0.21 ± 0.09
	FA	0.75 ± 0.00	0.29 ± 0.00	0.11 ± 0.00
	LH	1.41 ± 0.35	2.03 ± 0.51	1.18 ± 0.17
18:1n-9	FAP	2.16 ± 0.57	2.18 ± 0.47	1.72 ± 0.24
	FA	1.64 ± 0.34	1.73 ± 0.28	2.27 ± 0.82
	LH	0.13 ± 0.00	0.19 ± 0.05	0.16 ± 0.00
22:1n-9	FAP	1.86 ± 0.10	0.26 ± 0.08	0.29 ± 0.02
	FA	0.22 ± 0.00	0.26 ± 0.06	0.32 ± 0.00
	LH	13.22 ± 1.76	13.21 ± 1.89	15.49 ± 0.76
24:1n-9	FAP	13.82 ± 0.72	15.73 ± 0.69	18.82 ± 1.00[a3b1]
	FA	15.11 ± 0.54	16.12 ± 0.81	17.74 ± 0.82

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. 1: $p<0.05$. 3: $p<0.001$.

Tabla 66. *Perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y n-3 de la esfingomielina del eritrocito en recién nacidos pretérmino alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA).*

		Tiempo de alimentación		
A. graso	Dieta	0-2 días	15-17 días	30-32 días
	LH	0.72 ± 0.38	0.56 ± 0.21	0.27 ± 0.06
18:2n-6	FAP	0.63 ± 0.27	0.49 ± 0.18	0.36 ± 0.06
	FA	0.40 ± 0.08	0.32 ± 0.07	0.27 ± 0.04
	LH	0.80 ± 0.07	0.63 ± 0.06	0.61 ± 0.11
22:5n-6	FAP	0.77 ± 0.08	0.72 ± 0.07	0.67 ± 0.11
	FA	0.92 ± 0.16	0.63 ± 0.08	0.74 ± 0.15
	LH	1.85 ± 0.40	1.85 ± 0.31	2.70 ± 0.25
22:5n-3	FAP	2.22 ± 0.25	2.40 ± 0.23	2.86 ± 0.28
	FA	2.37 ± 0.21	2.08 ± 0.13	2.58 ± 0.23
	LH	N.D.	N.D.	N.D.
22:6n-3	FAP	N.D.	N.D.	0.35 ± 0.00
	FA	0.09 ± 0.00	N.D.	0.19 ± 0.00

Los resultados se expresan como media (%) ± SEM. N.D.: No detectado. N: LH=8, FAP=15, FA=14.

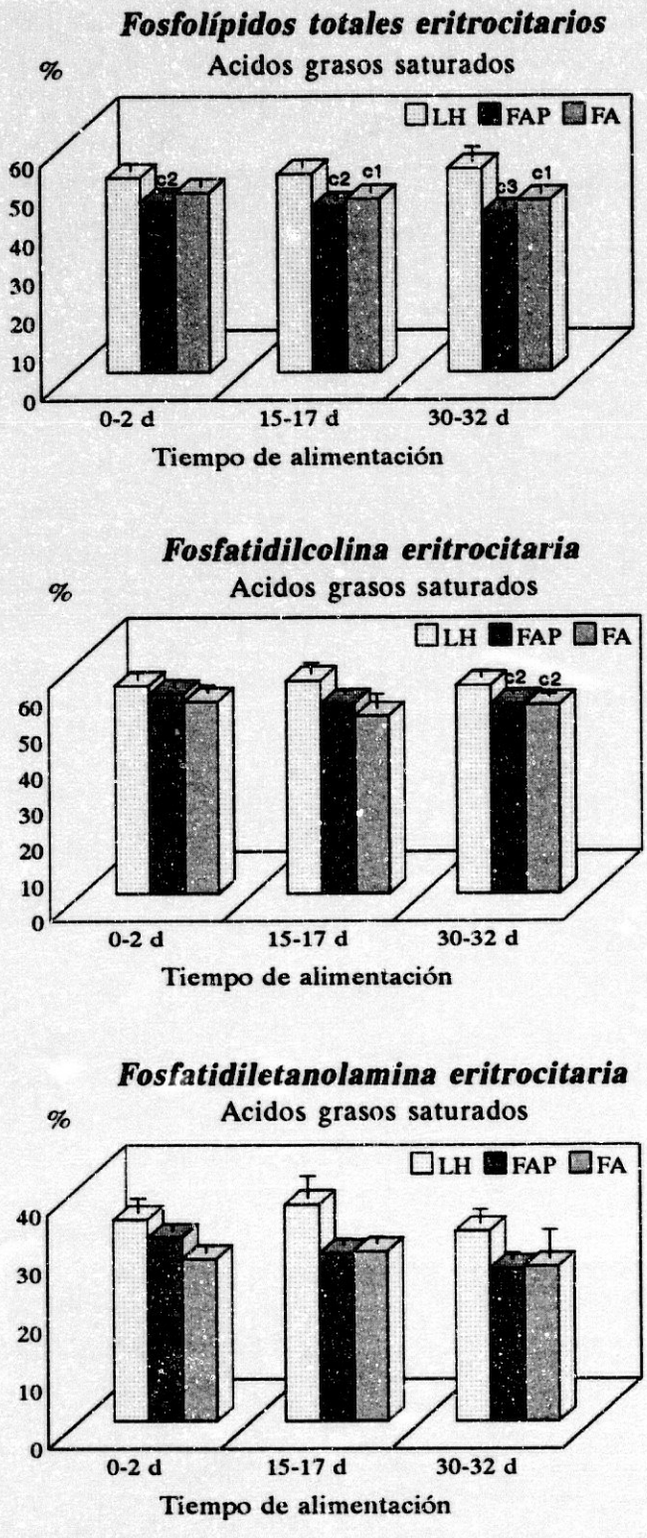
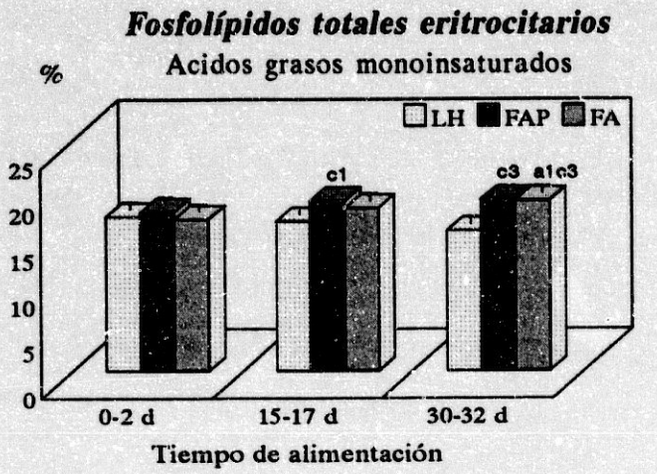
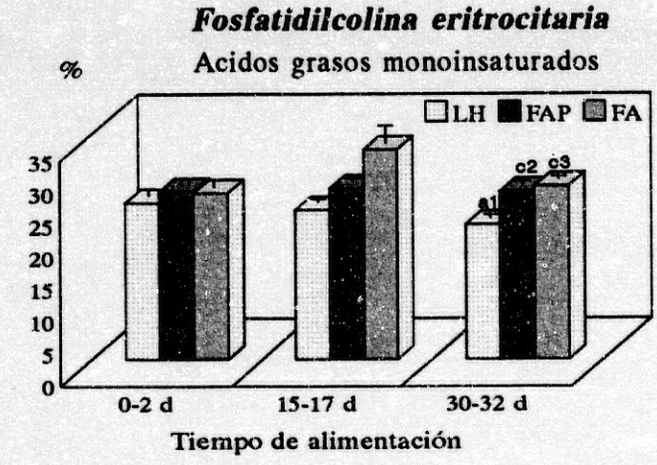


Figura 13. *Acidos grasos saturados de los lípidos eritrocitarios en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*





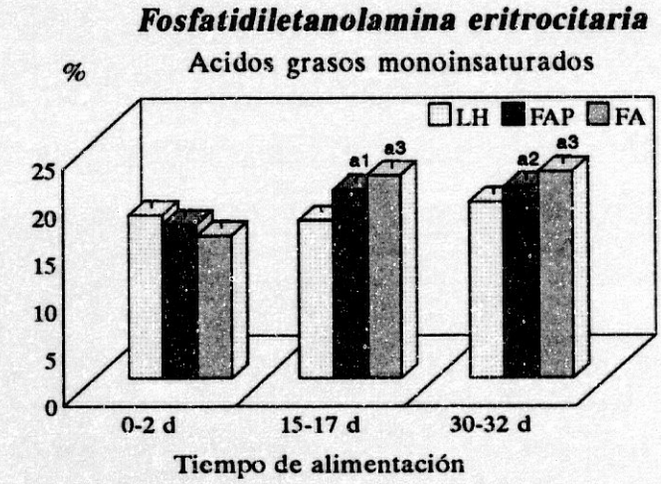


Figura 14. *Acidos grasos monoinsaturados de los lípidos eritrocitarios en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

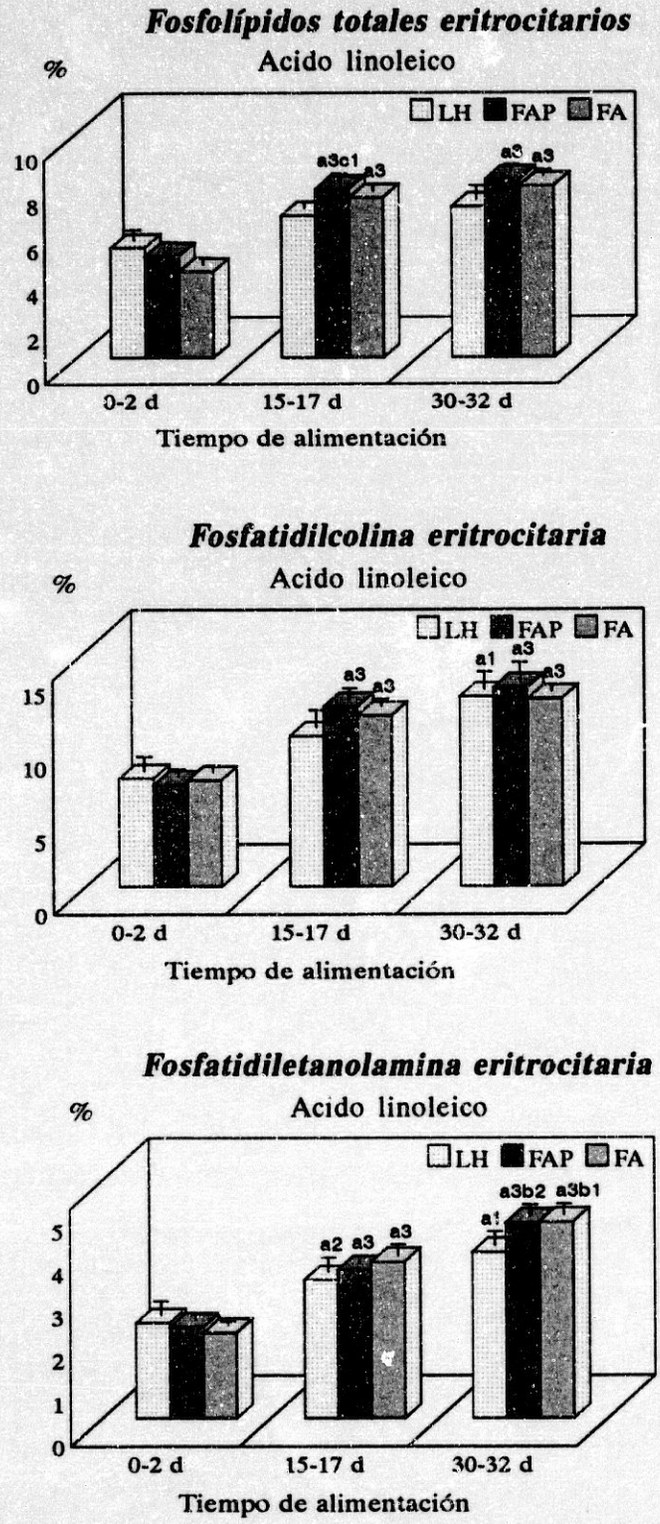


Figura 15. *Acido linoleico de los lípidos eritrocitarios en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. b: Diferencia significativa vs 15-17 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

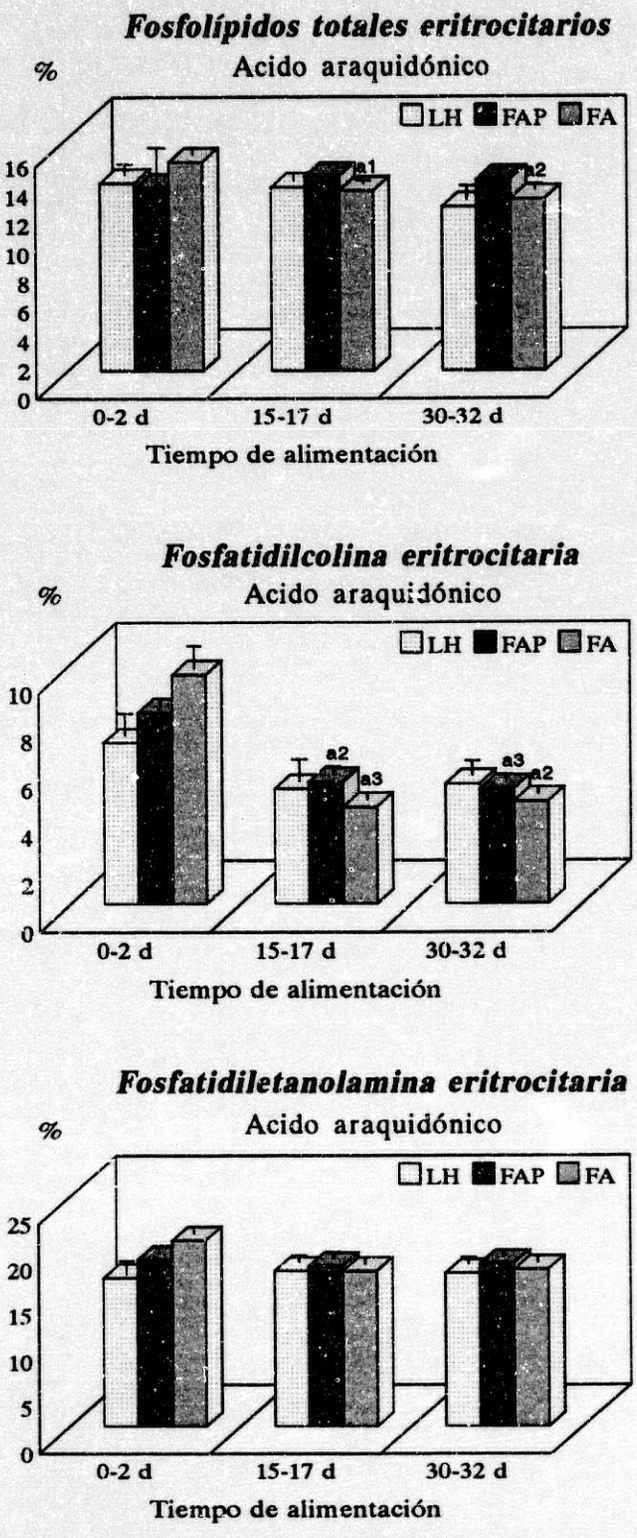


Figura 16. *Acido araquidónico de los lípidos eritrocitarios en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

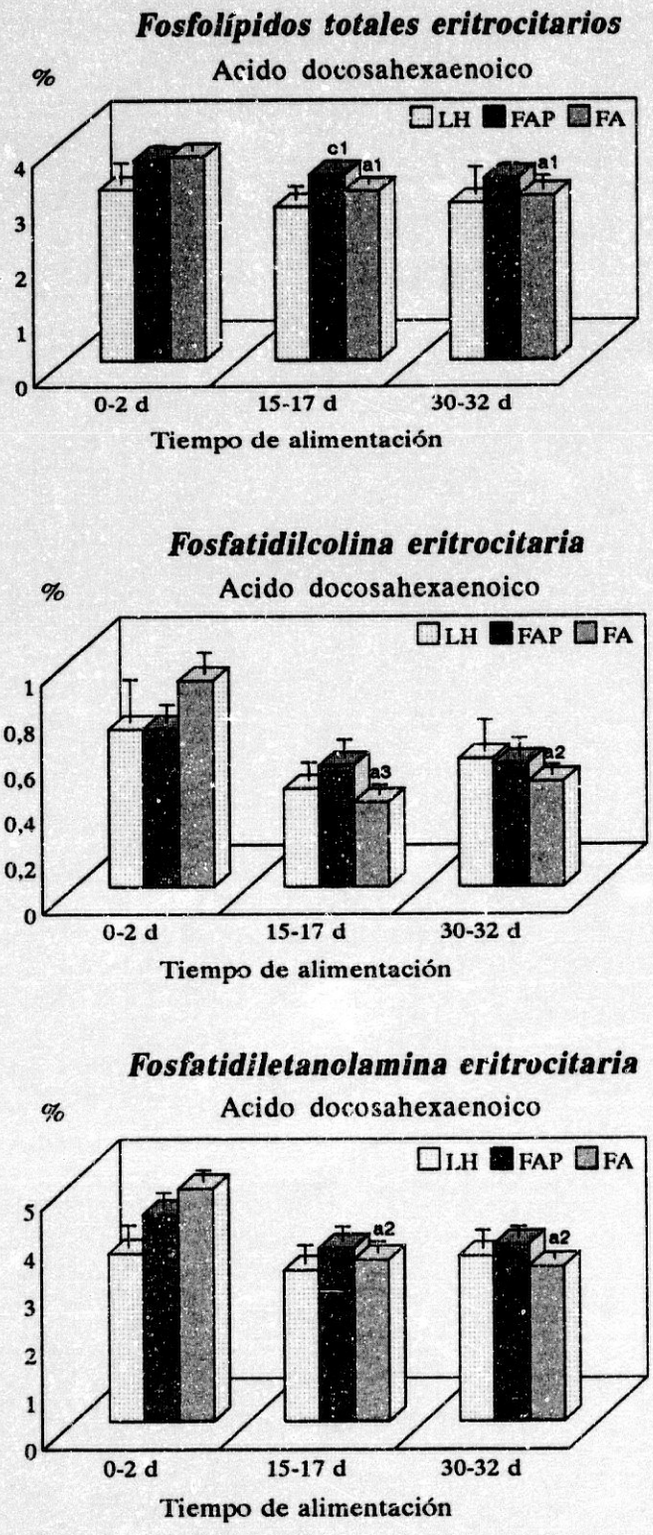


Figura 17. *Acido docosahexaenoico de los lípidos eritrocitarios en recién nacidos de bajo peso alimentados con leche humana (LH), fórmula adaptada suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (FAP) y fórmula adaptada (FA). N: LH = 8, FAP = 15, FA = 14. a: Diferencia significativa vs 0-2 días. c: Diferencia significativa vs LH. 1: $p < 0.05$. 2: $p < 0.01$. 3: $p < 0.001$.*

DISCUSIÓN

Introducción

La calidad y la composición de la grasa de la dieta del recién nacido tiene importantes efectos estructurales y funcionales sobre los tejidos neuronales en rápido crecimiento como el cerebro y la retina. Entre los diferentes aspectos relacionados con el aporte óptimo de los lípidos en las fórmulas para lactantes, la ingesta y el metabolismo de los AGPI-CL ha recibido una atención especial durante los últimos años (Decsi y Koletzko, 1994).

La composición en ácidos grasos de las fórmulas convencionales difiere marcadamente de la composición típica de la leche humana madura, especialmente en la ausencia de AGPI-CL (Koletzko *et al.*, 1992). Se han encontrado diferencias funcionales entre niños prematuros alimentados con leche humana o con fórmulas estándar. Dichas diferencias están relacionadas con el metabolismo de ácidos grasos y con la presencia de AGPI-CL en la leche materna. La disminución de DHA en los eritrocitos de los niños alimentados con fórmulas convencionales se ha asociado con una peor función visual (Uauy *et al.*, 1990; Birch *et al.*, 1992a; Birch *et al.*, 1992b) y con un menor índice de desarrollo mental (Carlson y Wilson, 1994).

Debido a este papel preponderante de los derivados de la serie n-3 en el desarrollo del sistema nervioso central, la mayor parte de los estudios realizados hasta el momento, en relación al efecto de la suplementación de la dieta con AGPI-CL en el período neonatal, contemplan la utilización exclusiva de AGPI-CL de la serie n-3 procedentes fundamentalmente de aceites de pescado (Carlson *et al.*, 1986; Liu *et al.*, 1987; Carlson *et al.*, 1991; Uauy *et al.*, 1990; Birch *et al.*, 1992a; Birch *et al.*, 1992b; Uauy y Hoffman, 1992).

Sin embargo, el descubrimiento de la relación existente entre la disponibilidad de los AGPI-CL de la serie n-6, muy especialmente de 20:4n-6, y el crecimiento postnatal en niños pretérmino (Koletzko y Braun, 1991; Carlson *et al.*, 1993) ha centrado la atención en la conveniencia de usar fórmulas con una relación adecuada de AGPI-CL de ambas series imitando la composición de la leche humana.

El presente estudio evalúa la influencia de una dieta suplementada con AGPI-CL de las

series n-6 y n-3 procedentes de una fuente fosfolipídica de origen animal (cerebro porcino) sobre la composición en ácidos grasos del plasma y de los eritrocitos en recién nacidos de bajo peso. Se ha determinado también la composición lipídica del plasma, ya que un estudio realizado por nuestro grupo de trabajo en un modelo experimental de cerdos malnutridos ha indicado un posible papel de los AGPI-CL de la dieta en el metabolismo de lipoproteínas. Por último, se ha analizado la capacidad antioxidante total plasmática con objeto de evaluar si la presencia en la fórmula de AGPI-CL puede tener un efecto perjudicial sobre la defensa antioxidante del recién nacido.

El extracto de cerebro de cerdo usado para suplementar la fórmula FAP presenta como característica diferencial un perfil de ácidos grasos que permite obtener cantidades de 20:4n-6 y 22:6n-3 en la dieta del recién nacido similares a las presentes en leche humana con casi ausencia de 20:5n-3. Por el contrario, el cerebro presenta los AGPI-CL en forma de fosfolípidos, a diferencia de lo que ocurre en la leche humana en la que se encuentran fundamentalmente esterificando la molécula de glicerol.

Otras fuentes de AGPI-CL de ambas series empleadas por diferentes investigadores han sido fosfolípidos de yema de huevo (Koletzko *et al.*, 1989), triglicéridos de algas (Carnielli *et al.*, 1994a) y triglicéridos de aceites de pescado con relaciones EPA/AA bajas (Clandinin *et al.*, 1992). La yema de huevo presenta la desventaja de que la cantidad de 22:6n-3 es muy baja en relación a la de 20:4n-6 (Jiang y Sim, 1992), por lo que para obtener un perfil de ácidos grasos similar al de la leche humana se necesitaría una fuente adicional de 22:6n-3. Los aceites de pescado suelen contener una proporción elevada de 20:5n-3 y aunque en los aceites marinos purificados se ha reducido bastante el contenido en este ácido graso, aún se encuentra en mayor cantidad en las fórmulas preparadas con dichos aceites que en la leche de madres con una dieta mixta.

Los recién nacidos incluidos en el estudio fueron de bajo peso con un rango comprendido entre 750-1840 g y edad gestacional entre 28-34 semanas incluyendo tanto pequeños como adecuados para la edad gestacional de forma balanceada en los tres grupos (tabla 1). Gran parte de los recién nacidos pueden considerarse como de muy bajo peso presentando un peso al nacer ≤1500 g (n=7 en el grupo de LH, n=11 en el grupo de FAP y n=9 en el grupo de FA). Dichos recién nacidos podrían tener mayor riesgo de deficiencia en AGPI-CL y peor desarrollo neuronal debido a su bajo peso y su inmadurez.

La duración del estudio fue de un mes después de iniciada la alimentación aunque se consiguieron muestras entre los 45-47 días en algunos niños, cuyos análisis confirmaron las tendencias y diferencias observadas previamente.

Desde el inicio del estudio hasta recibir el alta en el Hospital se realizó un seguimiento de la evolución de los parámetros antropométricos. Este aspecto, que se realiza rutinariamente en cualquier estudio en el que están implicados recién nacidos, cobra especial importancia en este trabajo debido a que la suplementación de fórmulas con aceites de pescado se ha relacionado con un menor crecimiento en niños pretérmino durante el primer año de vida (Carlson y Salem, 1991; Carlson *et al.*, 1992).

Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la dieta y el crecimiento

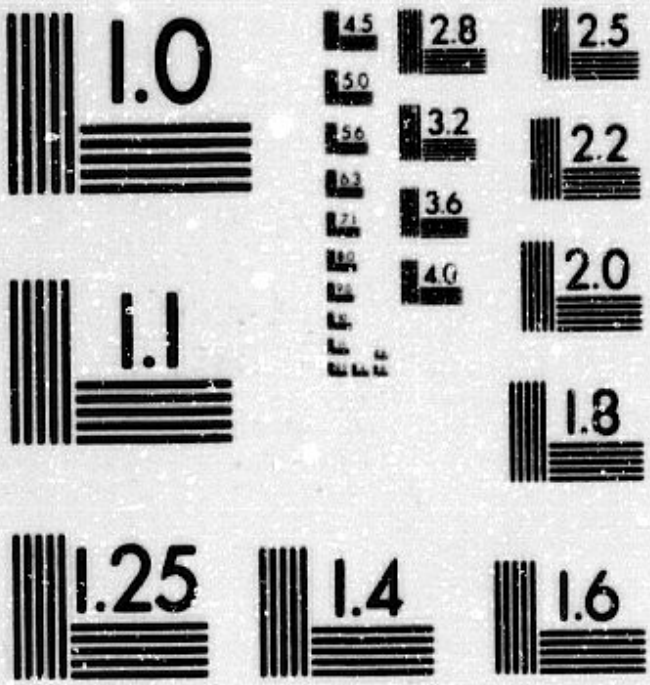
Los resultados de este estudio indican que no existieron diferencias significativas entre los tres grupos de alimentación en los valores absolutos de peso, talla y perímetro cefálico, por lo que aparentemente el crecimiento fue equivalente para los tres grupos. Sin embargo, cuando en lugar de valores absolutos se consideran los incrementos de dichos parámetros antropométricos se observó que la velocidad de crecimiento tendió a ser superior en el grupo que recibió la dieta suplementada con AGPI-CL que en el que se alimentó con la fórmula convencional. Las diferencias encontradas entre ambos grupos se acentuaron llegando a ser estadísticamente significativas cuando se consideraron sólo los recién nacidos de muy bajo peso ($\leq$1500 g). Carlson *et al.* (1992) describieron que los recién nacidos pretérmino alimentados con una fórmula suplementada con AGPI-CL procedentes de aceites de pescado presentaron peor crecimiento durante el primer año de vida que los niños alimentados con la fórmula sin suplementar. Según estos investigadores este hecho se relacionaría con la disminución de 20:4n-6 ocurrida en los tejidos de los niños que recibieron AGPI-CL de la serie n-3, debido al desplazamiento de 20:4n-6 que produce en los tejidos el 20:5n-3, presente en los aceites de pescado utilizados para la preparación de la fórmula suplementada. Estos y otros investigadores han descrito la relación existente entre el estado de 20:4n-6 en los recién nacidos y el crecimiento, especialmente durante el primer año de vida (Koletzko y Braun, 1991; Carlson *et al.*, 1992; Leaf *et al.*, 1992).

En nuestro estudio las proporciones de 20:4n-6 fueron superiores en los niños alimentados con la fórmula suplementada con AGPI-CL que en los que recibieron la fórmula estándar tanto en los lípidos totales del plasma como en los fosfolípidos y ésteres de colesterol plasmáticos, indicando un mejor estado de 20:4n-6 en estos niños. Este hecho podría estar relacionado con el mayor crecimiento encontrado en el grupo de FAP. Sin embargo, no se ha encontrado una correlación estadísticamente significativa entre la proporción de 20:4n-6 y cualquiera de los parámetros antropométricos evaluados.

Por otro lado, las diferencias encontradas en la velocidad de crecimiento entre los grupos de alimentación no pueden ser justificadas en base a una menor ingesta de energía ya que ésta fue controlada diariamente y no se encontraron diferencias en la cantidad de fórmula ingerida por cada grupo. Tampoco pueden ser justificadas en base a una falta de homogeneidad entre los grupos o a la inclusión de niños con factores que pudiesen afectar negativamente al crecimiento en el grupo FA. Puesto que los niños fueron asignados a los dos grupos de alimentación con fórmula al azar y las fórmulas se diferenciaron únicamente en la presencia o no de AGPI-CL, la causa de las diferencias observadas en el crecimiento de estos niños podrían ser los AGPI-CL de la dieta.

Si tenemos en cuenta que los niños pretérmino presentan mayor riesgo de déficit de AA (Carlson *et al.*, 1992b) y que en general el estado de AGPI-CL está relacionado positivamente con la edad gestacional (Foreman-van Drongelen *et al.*, 1995) es lógico encontrar mayores diferencias en los niños de muy bajo peso, cuyo graso de prematuridad sería mucho mayor.

El grupo alimentado con leche humana presentó menor incremento de peso y talla, así como un peso inferior en el momento del alta del hospital comparado con los grupos alimentados con fórmulas. Este hecho ha sido descrito tanto en Tratados de Nutrición Pediátrica (Fomon y Nelson, 1993) como en otros trabajos de investigación dedicados al estudio de la influencia de los AGPI-CL de la dieta sobre la composición en ácidos grasos de plasma y eritrocitos en los que se empleó también un grupo de leche humana como control (Clandinin *et al.*, 1992; Hoffman y Uauy, 1992). Este hecho puede deberse a la menor ingesta proteica y mineral de los recién nacidos alimentados con leche humana respecto a los grupos que recibieron fórmula láctea cuya composición está adaptada a los especiales requerimientos del prematuro.



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART
NATIONAL BUREAU OF STANDARDS
STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a
(ANSI and ISO TEST CHART No. 2)

En nuestro estudio las proporciones de 20:4n-6 fueron superiores en los niños alimentados con la fórmula suplementada con AGPI-CL que en los que recibieron la fórmula estándar tanto en los lípidos totales del plasma como en los fosfolípidos y ésteres de colesterol plasmáticos, indicando un mejor estado de 20:4n-6 en estos niños. Este hecho podría estar relacionado con el mayor crecimiento encontrado en el grupo de FAP. Sin embargo, no se ha encontrado una correlación estadísticamente significativa entre la proporción de 20:4n-6 y cualquiera de los parámetros antropométricos evaluados.

Por otro lado, las diferencias encontradas en la velocidad de crecimiento entre los grupos de alimentación no pueden ser justificadas en base a una menor ingesta de energía ya que ésta fue controlada diariamente y no se encontraron diferencias en la cantidad de fórmula ingerida por cada grupo. Tampoco pueden ser justificadas en base a una falta de homogeneidad entre los grupos o a la inclusión de niños con factores que pudiesen afectar negativamente al crecimiento en el grupo FA. Puesto que los niños fueron asignados a los dos grupos de alimentación con fórmula al azar y las fórmulas se diferenciaron únicamente en la presencia o no de AGPI-CL, la causa de las diferencias observadas en el crecimiento de estos niños podrían ser los AGPI-CL de la dieta.

Si tenemos en cuenta que los niños pretérmino presentan mayor riesgo de déficit de AA (Carlson *et al.*, 1992b) y que en general el estado de AGPI-CL está relacionado positivamente con la edad gestacional (Foreman-van Drongelen *et al.*, 1995) es lógico encontrar mayores diferencias en los niños de muy bajo peso, cuyo graso de prematuridad sería mucho mayor.

El grupo alimentado con leche humana presentó menor incremento de peso y talla, así como un peso inferior en el momento del alta del hospital comparado con los grupos alimentados con fórmulas. Este hecho ha sido descrito tanto en Tratados de Nutrición Pediátrica (Fomon y Nelson, 1993) como en otros trabajos de investigación dedicados al estudio de la influencia de los AGPI-CL de la dieta sobre la composición en ácidos grasos de plasma y eritrocitos en los que se empleó también un grupo de leche humana como control (Clandinin *et al.*, 1992; Hoffman y Uauy, 1992). Este hecho puede deberse a la menor ingesta proteica y mineral de los recién nacidos alimentados con leche humana respecto a los grupos que recibieron fórmula láctea cuya composición está adaptada a los especiales requerimientos del prematuro.

Ácidos grasos saturados, monoinsaturados, linoleico y α-linolénico en niños alimentados con leche humana

Este estudio muestra de nuevo la influencia que la alimentación con leche humana ejerce sobre el contenido en ácidos grasos saturados del plasma del recién nacido. Los niños alimentados con leche humana presentaron mayor cantidad de 12:0, 14:0, 16:0 y 18:0 en los lípidos totales plasmáticos y en todas sus fracciones, así como también en los fosfolípidos de los eritrocitos.

Estas diferencias pueden ser explicadas en base a varios mecanismos. En primer lugar, la mayor cantidad de 16:0 presente en la leche humana, procedente del banco del que se alimentaron los niños del grupo LH, justificaría la mayor concentración del mismo en el plasma. Sin embargo, también se encontró mayor cantidad de 18:0 plasmático en el grupo LH aún cuando el contenido de este ácido graso fue similar en las tres dietas.

Otro posible mecanismo sería la mayor absorción de la grasa de la leche humana. Se conoce que la grasa presente en la leche humana se absorbe mejor debido a la presencia de la lipasa estimulada por sales biliares (Fredickson *et al.*, 1978) y a la distribución de los ácidos grasos en la molécula de triglicérido que favorecería la absorción de los ácidos grasos saturados en forma de 2-monoglicéridos (Tomarelli *et al.*, 1968; Filer *et al.*, 1969). En nuestro caso la lipasa estimulada por sales biliares no intervendría en el proceso de absorción ya que la leche fue pasterizada para garantizar su conservación y esta enzima se inactiva por el calor (Fredickson *et al.*, 1978). La existencia de una mayor absorción de grasa en el grupo alimentado con LH se demuestra además por el mayor contenido de lípidos circulantes que tendieron a presentar estos niños.

Por otro lado los ácidos grasos de cadena media más abundantes en las fórmulas fueron 8:0 y 10:0 frente a 12:0 y 14:0 presentes en la leche humana. Las diferencias entre vías de absorción y el metabolismo de estos ácidos grasos podrían influir sobre las proporciones de otros a nivel plasmático como es el caso de los ácidos grasos saturados. En efecto, en un estudio realizado en cerdos se encontró que la alimentación con una dieta conteniendo ácidos grasos de

cadena intermedia (12:0 y 14:0), produjo un mayor porcentaje de ácidos grasos saturados en las fracciones plasmáticas que otra dieta que contenía 8:0 y 10:0 y el mismo perfil de ácidos grasos de cadena larga (Wall *et al.*, 1992).

Otro resultado destacable es la menor y mayor cantidad de 18:1n-9 y 18:2n-6 respectivamente, encontrada en los lípidos plasmáticos y todas sus fracciones de los niños alimentados con leche humana. Este hecho demuestra la influencia que la composición en ácidos grasos de la dieta produce de forma directa sobre el patrón plasmático de ácidos grasos, y al mismo tiempo el efecto que la dieta de la madre ejerce sobre la composición en ácidos grasos de la leche humana. La leche de madres brasileñas presentó un mayor contenido de los ácidos linoleico y α-linolénico y menor de ácido oleico en relación al perfil encontrado en leche de madres de nuestro entorno geográfico. Este hecho es debido al consumo de aceite de soja, más rico en AGE, por parte de las madres brasileñas en lugar del aceite de oliva, habitualmente empleado en España.

Varios investigadores también han demostrado la modificación que la dieta de la madre produce sobre el contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y esenciales en la leche materna (Gibson y Kneebone, 1984; Koletzko *et al.*, 1988; Koletzko *et al.*, 1992). En estos mismos estudios se ha descrito que la modificación del contenido en AGPI-CL de la leche humana a través de la dieta materna es mucho más difícil de conseguir que la modificación de sus ácidos grasos precursores.

Este hecho se confirma también en nuestro estudio ya que la leche humana de ambos países presentó un contenido muy similar de AGPI-CL a pesar de las diferencias encontradas en las proporciones de 18:2n-6 (20.92 vs 12.59) y 18:3n-3 (1.58 vs 0.57).

Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta sobre la composición en ácidos grasos plasmática

La alimentación con una fórmula estándar produjo una disminución de AGPI-CL en los lípidos plasmáticos coincidiendo con los resultados publicados previamente por otros

investigadores y por nuestro propio grupo de trabajo (Sanders y Naismith, 1979; Putnam *et al.*, 1982; Carlson *et al.*, 1986; DeLucchi *et al.*, 1988; Clandinin *et al.*, 1989; Pita *et al.*, 1989; Koletzko *et al.*, 1989; Ponder *et al.*, 1992). La menor cantidad de AGPI-CL en el plasma de los niños alimentados con fórmula, a pesar de la ingesta de cantidades adecuadas de sus precursores, sugiere un cierto déficit de la actividad desaturasa o que la velocidad de síntesis de AGPI-CL es menor que su eliminación del plasma debido al almacenamiento en los tejidos o a la utilización para la síntesis de eicosanoides.

La actividad de la delta-6 desaturasa, enzima limitante en la síntesis de AGPI-CL, es sólo la mitad de la de un adulto en el hígado fetal humano a las 22 semanas de gestación (Chambaz *et al.*, 1985). Las actividades de la delta-6 y delta-5 desaturasas en el hígado de cerdos prematuros son inferiores que en animales a término (Clandinin *et al.*, 1985). Estudios recientes han determinado la capacidad de desaturación *in vivo* en recién nacidos humanos prematuros, indicando que existe actividad desaturasa incluso en las primeras semanas de vida pero que ésta es probablemente insuficiente para cubrir las necesidades de tejidos en rápido desarrollo, especialmente de los del sistema nervioso central (Carnielli *et al.*, 1994b; Salem *et al.*, 1996).

La alimentación con una dieta que contenía AGPI-CL de ambas series condujo a un perfil de ácidos grasos plasmáticos similar al que presentaron los niños alimentados con leche humana. Merece la pena destacar que cantidades relativamente pequeñas de AGPI-CL presentes en la dieta (leche humana o fórmula suplementada) son capaces de incrementar las proporciones de AGPI-CL en los fosfolípidos plasmáticos en aproximadamente un 4% con respecto a los porcentajes encontrados por el grupo de fórmula estándar.

Los porcentajes de 20:4n-6 observados en los lípidos plasmáticos del grupo que recibió la suplementación con AGPI-CL fueron inferiores a los del grupo de leche humana, como consecuencia del menor contenido de éste ácido graso en la dieta FAP (0.97 en LH vs 0.34 en FAP). En cambio, los perfiles de 22:6n-3 fueron muy parecidos en ambos grupos e incluso superiores en el grupo FAP especialmente en la fracción de fosfolípidos, a pesar de encontrarse en una cantidad ligeramente inferior en dicha dieta (0.34 en LH vs 0.23 en FAP). Esto coincide con los resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo en cerdos recién nacidos sugiriendo una mejor absorción de la fracción fosfolipídica de la dieta suplementada con AGPI-CL muy

especialmente del 22:6n-3 (Jiménez, 1992; López-Pedrosa, 1995). Durante el período postnatal temprano se ha descrito una baja actividad de la lipasa pancreática y una baja concentración micelar crítica (Zoppi *et al.*, 1972). Todo ello origina menor absorción de los triglicéridos de la dieta. Los fosfolípidos, debido a su naturaleza polar entran a formar parte de las micelas, lo que podría permitir que se absorban más eficazmente que los triglicéridos. Por otro lado, el hecho de que este efecto sea más notable para el 22:6n-3 que para otros ácidos grasos se explicaría por la posición de los ácidos grasos en la molécula de fosfolípido que podría favorecer la absorción de un determinado ácido graso, de forma equivalente a lo que ocurre con el ácido palmítico en la posición sn-2 de la molécula del triglicérido (Tomarelli *et al.*, 1968; Filer *et al.*, 1969).

Otro aspecto interesante, es que los perfiles de 22:5n-3, precursor directo del 22:6n-3, fueron superiores en los niños alimentados con leche humana que los que recibieron fórmulas debido a la presencia de cantidades apreciables de este ácido grasos en la leche humana (0.32%, aproximadamente, el mismo porcentaje en el que se encuentra el 22:6n-3). La fórmula suplementada con AGPI-CL prácticamente no contenía 22:5n-3 debido a que la cantidad de este ácido graso en la fuente empleada para suplementar la fórmula era muy pequeña en relación a la de 22:6n-3 (tabla 6).

Uno de los aspectos adversos del uso de aceites de pescado en las fórmulas para recién nacidos es el incremento de 20:5n-3 que se produce en el plasma y eritrocitos con la consiguiente reducción de 20:4n-6 (Carlson y Salem, 1991). Como se muestra en este estudio, la alimentación con una fórmula suplementada con AGPI-CL procedentes de cerebro porcino no produce modificaciones de los porcentajes de 20:5n-3, ya que la fórmula no contenía cantidades detectables de este ácido graso.

Los ácidos grasos de la serie n-6 y n-3 no son intercambiables entre si y tienen efectos biológicos diferentes. La relación entre los derivados de la serie n-3 y n-6 puede regular la composición de los tejidos y la síntesis de prostaglandinas. En animales de experimentación, cambios en la relación n-6/n-3 de la dieta conduce a un desplazamiento de AGPI-CL de las dos series en el cerebro (Lamptey y Walker, 1976; Yamamoto *et al.*, 1987). Por otro lado, las prostaglandinas derivadas de los ácidos grasos de una y otra serie tienen efectos antagónicos en procesos fisiológicos como la agregación plaquetaria de modo que relaciones extremas entre los

ácidos grasos de las series n-6 y n-3 alteran el proceso de coagulación y producen riesgo de hemorragias (Needleman *et al.*, 1979).

La importancia de los AGPI-CL de la serie n-3 del cerebro y de la retina para el desarrollo de la función visual y de otras funciones neuronales ha sido demostrada (Bourre *et al.*, 1989; Uauy *et al.*, 1990; Birch *et al.*, 1992a; Birch *et al.*, 1992b; Werkman y Carlson, 1995), pero la acumulación de AGPI-CL de la serie n-6 en el cerebro humano durante la época de rápido crecimiento es casi el doble que la de los derivados de la serie n-3 (Clandinin *et al.*, 1980). Además existe una correlación entre el contenido de ambas series en la leche humana reflejando un mecanismo protector para aportar al recién nacido una relación constante n-6/n-3 (Koletzko *et al.*, 1988). Incluso los contenidos en AGPI-CL de las series n-6 y n-3 en los fosfolípidos plasmáticos de los recién nacidos están correlacionados entre sí (Carlson *et al.*, 1992b).

Estos estudios indican la conveniencia de que la suplementación de las fórmulas con AGPI-CL se realice con derivados de las series n-6 y n-3 en una relación adecuada. Nuestros resultados confirman este hecho ya que la alimentación de recién nacidos de bajo peso con la fórmula suplementada con AGPI-CL produce un perfil de ácidos grasos plasmáticos parecido al que presentan los recién nacidos alimentados con leche humana.

Otro aspecto interesante es cuál es la cantidad de 20:4n-6 y 22:6n-3 que deberían contener las fórmulas. El Comité de Nutrición del ESPGAN recomienda suplementar las fórmulas para recién nacidos de bajo peso con AGPI-CL en cantidades que se asemejen a las presentes en leche humana evitando valores extremos (ESPGAN, 1991).

Se han publicado otros trabajos en recién nacidos a término y pretérmino en los que también se suplementaron las fórmulas con AGPI-CL de ambas series diferenciándose del presente estudio en la cantidad de 20:4n-6 y 22:6n-3 que contenía la dieta y en la procedencia de estos ácidos grasos (Koletzko *et al.*, 1989 ; Clandinin *et al.*, 1992; Carnielli *et al.*, 1994a; Decsi y Koletzko, 1995).

Koletzko *et al.* (1989) publicaron un trabajo en recién nacidos prematuros en el que suplementaron una fórmula con AGPI-CL de yema de huevo. Las proporciones de 20:4n-6 y

22:6n-3 en la fórmula suplementada fueron la mitad de los encontrados en leche humana (0.2% de 20:4n-6 y 0.1% de 22:6n-3). El mismo grupo de trabajo publicó posteriormente otro estudio en niños a término con un nivel de suplementación superior, 0.4% de 20:4n-6 y 0.3% de 22:6n-3 (Decsi y Koletzko, 1995). En el primer trabajo los niños que recibieron la fórmula suplementada presentaron porcentajes intermedios de AGPI-CL entre los alimentados con leche humana y una fórmula estándar.En el segundo trabajo no se incluyó un grupo alimentado al pecho, pero los datos de un estudio anterior se aportaron como referencia en la discusión, indicando que los niños alimentados con la fórmula suplementada presentaron concentraciones similares de AGPI-CL n-6 que los alimentados con leche humana pero superiores de AGPI-CL n-3.

Clandinin *et al.* (1994) describieron que recién nacidos de bajo peso alimentados con una fórmula que contenía 0.21% y 0.35% del total de ácidos grasos como 20:4n-6 y 22:6n-3, respectivamente procedentes de aceite de pescado con una baja relación EPA/AA, presentaron concentraciones de 22:6n-3 en los fosfolípidos plasmáticos similares a los niños del grupo de leche humana aunque la cantidad de 20:4n-6 fue inferior en los niños que recibieron la fórmula suplementada.

Finalmente en el trabajo de Carnielli *et al.* (1994a) cantidades superiores de 20:4n-6 y 22:6n-3 en la dieta a las descritas en los otros estudios y en la presente memoria (0.75% de 20:4n-6 y 0.6% de 22:6n-3) produjeron un patrón de AGPI similar al de los niños alimentados por la leche de sus propias madres.

Los resultados de este trabajo indican que una cantidad de 22:6n-3 cercana a 0.2% del total de ácidos grasos de la dieta es suficiente para conseguir proporciones de este ácido graso en plasma similares a los de recién nacidos alimentados al pecho. Sin embargo, la cantidad de 20:4n-6 en la dieta debería ser superior al 0.34% ya que se consiguieron concentraciones intermedias de este ácido graso entre las presentadas por los grupos LH y FA.

Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la dieta sobre la composición lipídica del plasma

Se ha sugerido que el efecto comparativo de la alimentación con leche humana o con fórmula sobre la composición en ácidos grasos plasmática es diferente para los derivados de la serie n-6 que para los de la n-3 y que el efecto producido en la serie n-6 estaría relacionado con el metabolismo de lipoproteínas (Innis, 1993). Esta hipótesis se deduce de forma indirecta de los estudios realizados en niños y en cerdos recién nacidos. Los porcentajes de 18:2n-6 fueron superiores en niños alimentados con fórmula que los alimentados con leche humana, a pesar de que la fórmula contenía una cantidad de 18:2n-6 equivalente a la presente en leche humana (Putnam *et al.*, 1982; Clandinin *et al.*, 1992). Los animales alimentados con leche de cerda que contenía un 8% o un 23% de 18:2n-6 mostraron concentraciones similares de este ácido graso. Sin embargo, cerdos alimentados con fórmulas que contenían un 16% de 18:2n-6 presentaron concentraciones superiores de 18:2n-6 que los que recibieron la leche materna (Innis, 1993).

Clásicamente, se ha considerado que los niños alimentados al pecho presentan un patrón de lipoproteínas diferente al de los alimentados con fórmula, caracterizado por una mayor concentración de LDL y HDL y menor de VLDL (Sánchez-Pozo y Gil, 1996). Este hecho ha sido atribuido a la concentración superior de colesterol y grasa saturada de la leche humana (Jensen, 1989b) que podría afectar a la actividad de la LCAT, enzima encargada de la transferencia de 18:2n-6 desde la posición sn-2 de los fosfolípidos al colesterol libre. Este mismo mecanismo podría explicar las diferencias observadas en el metabolismo del 18:2n-6 entre los niños alimentados con leche humana y con fórmula.

Además, en varios estudios en los que se han empleado fórmulas suplementadas con AGPI-CL se han encontrado concentraciones menores de 18:2n-6 en los niños que recibieron la fórmula suplementada con respecto al control (Clandinin *et al.*, 1992; Decsi y Koletzko, 1995; Carnielli et al., 1994a) indicando el papel de los AGPI-CL de la dieta en el metabolismo de lipoproteínas a nivel hepático o intestinal.

Nuestro estudio presenta varias características diferenciales con respecto a los anteriores: en primer lugar, las proporciones de 18:2n-6 de la leche materna fueron superiores a los de ambas fórmulas y en segundo lugar, la fórmula suplementada con AGPI-CL contenía colesterol en una cantidad tal que al ser reconstituida, la concentración de colesterol era similar a la presente en leche humana (aproximadamente 20 mg/dl).

Un incremento de un 3% en la cantidad relativa de 18:2n-6 en la leche humana con respecto a las fórmulas produjo una tendencia a aumentar la concentración absoluta de este ácido graso en plasma debido a la mayor cantidad de dicho ácido graso en la fracción de triglicéridos, aunque la cantidad relativa de 18:2n-6 en los lípidos totales y en fosfolípidos y ésteres de colesterol fue muy similar en los tres grupos de alimentación. Esto estaría de acuerdo con la teoría antes expuesta de un metabolismo diferente para el 18:2n-6 en los niños alimentados al pecho pero que no podría ser atribuido a la mayor concentración de colesterol o a la presencia de AGPI-CL en la dieta ya que el grupo alimentado con la fórmula suplementada presentó concentraciones y cantidades relativas de 18:2n-6 en plasma y en fracciones equivalentes a las del grupo control.

Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en los perfiles de triglicéridos, colesterol y fosfolípidos entre los niños que recibieron ambos tipos de fórmulas por lo que la suplementación de AGPI-CL no produciría alteraciones de la composición lipídica plasmática en los recién nacidos.

Aunque se ha descrito que los niños alimentados al pecho presentan mayores concentraciones de colesterol (Boehm *et al.*, 1993) es interesante destacar que no encontramos diferencias significativas entre los proporciones de colesterol de los niños alimentados con leche humana, la fórmula suplementada con AGPI-CL y los alimentados con fórmula estándar a pesar de las diferencias en la ingesta de colesterol. Esto podría deberse a la existencia de un mecanismo que equilibrase la ingesta y los procesos de síntesis, metabolismo y excreción del colesterol.

Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la dieta sobre la capacidad antioxidante total plasmática

Uno de los efectos adversos de la adición de AGPI-CL a las fórmulas infantiles es la tendencia que estos ácidos grasos tienen a oxidarse pudiendo afectar negativamente a los sistemas de defensa antioxidante de los recién nacidos.

Decsi y Koletzko (1995) han descrito que los perfiles de retinol y α-tocoferol en niños a término no se afectaron cuando las fórmulas se suplementaron con AGPI-CL de ambas series, pero que la adición de AGPI-CL de aceite de pescado podría afectar el estado antioxidante en niños de bajo peso. Por el contrario, Uauy *et al.* (1994) no encontraron efectos adversos en niños de bajo peso alimentados con fórmulas adicionadas de aceite de pescado.

Existen diversas sustancias de carácter antioxidante en los fluidos biológicos tales como la vitamina C, vitamina E, el ácido úrico, la glutation peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, transferrina y ceruloplasmina (Wayner *et al.*, 1987). En el presente trabajo se ha determinado la capacidad antioxidante total plasmática como el porcentaje de inhibición producida por la adición de una cantidad de plasma a un medio de reacción que contenía un sustrato fácilmente oxidable. Mediante esta metodología no se han encontrado diferencias significativas entre los niños alimentados con la fórmula que contenía AGPI-CL y los que recibieron la fórmula estándar. Esto puede ser debido a la buena estabilidad que presentan los AGPI-CL procedentes de cerebro de cerdo, tanto en extracto puro como incorporados a una fórmula (datos no publicados).

Por tanto, la suplementación de una fórmula con AGPI-CL de las series n-6 y n-3 incrementa el estado de estos ácidos grasos en plasma sin producir efectos adversos apreciables en las defensa antioxidantes del recién nacido.

Es interesante destacar que los recién nacidos alimentados con leche humana tendieron a presentar mayor capacidad antioxidante plasmática a lo largo de todo el estudio, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Esto podría deberse a la presencia en la

leche humana de sustancias con carácter antioxidante (Hamosh, 1989).

Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta sobre la composición lipídica eritrocitaria

Los trabajos dedicados al estudio de la influencia de la calidad lipídica de la dieta sobre el estado de ácidos grasos en los recién nacidos evalúan los cambios producidos en los eritrocitos y sus fracciones como indicadores de lo que ocurre a nivel de otros tejidos (Carlson *et al.*, 1986; Pita *et al.*, 1989; Uauy *et al.*, 1990; Ponder *et al.*, 1992). Sin embargo, no existe un acuerdo entre los diferentes grupos de investigación sobre si los eritrocitos reflejan o no los cambios producidos en los tejidos neurales y si indican el estado real de ácidos grasos esenciales durante la infancia (Clandinin *et al.*, 1992).

Makrides *et al.* (1994) encontraron que el perfil de DHA de los eritrocitos se correlacionaba con el DHA de la corteza cerebral pero no con el de la retina. Además, los niños alimentados al pecho tenían mayor proporción de DHA en los eritrocitos y en la corteza cerebral que los alimentados con fórmula, aunque no existieron diferencias a nivel de la retina. Por el contrario, los cambios encontrados en la proporción de AA de los eritrocitos entre los grupos de alimentación no se observaron en ninguno de los tejidos, tanto corteza cerebral como retina. A pesar de no existir un efecto de la dieta en la composición de la retina, éstos y otros investigadores han encontrado mejores índices de agudeza visual en niños alimentados con leche humana y fórmulas que contenían AGPI-CL n-3 (Birch *et al.*, 1992a; Makrides *et al.*, 1993).

En la mayor parte de los trabajos consultados, los cambios ocurridos en la composición en AGPI-CL de los eritrocitos en respuesta a la alimentación con leche humana y con fórmulas que difieren en el contenido en AGE y AGPI-CL, se corresponden con los ocurridos en plasma (Ponder *et al.*, 1992; Carlson *et al.*, 1991; Carlson *et al.*, 1992b).

En el presente estudio, a pesar de las marcadas diferencias que se observaron en la composición en AGPI-CL del plasma y sus fracciones, no se obtuvieron diferencias significativas entre los tres grupos de alimentación.

Una explicación a este hecho es que la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos eritrocitarios responda poco a los cambios debidos al tiempo de alimentación y a la dieta como otros investigadores han indicado (Clandinin *et al.*, 1992). Otra explicación de la inexistencia de cambios en la composición de AGPI-CL en los eritrocitos es el hecho de que como parte del tratamiento la mayor parte de los niños incluidos en el estudio recibieron concentrados de hematíes para mantener un nivel de hemoglobina dentro de márgenes aceptables. Esto estaría apoyado por la ausencia de correlación entre los porcentajes de 20:4n-6 y 22:6n-3 del plasma y de los eritrocitos.

La administración de transfusiones o de concentrados de hematíes es una práctica habitual en el tratamiento de los niños de bajo peso. En otros estudios que también investigaban los factores que afectan a la composición tisular en ácidos grasos de los recién nacidos también se indica la realización de transfusiones a los niños (Carlson *et al.*, 1986; Leaf *et al.*, 1992; Uauy *et al.*, 1994; Foreman-van Drongelen *et al.*, 1995). La extensión en la que dichas prácticas afectan a la composición en ácidos grasos de los eritrocitos no se conoce pero es la causa más probable de las discrepancias encontradas entre los cambios en la composición de ácidos grasos del plasma y de los eritrocitos.

Sin embargo, hay que indicar que en nuestro estudio sí se observaron cambios debidos a la dieta aunque no afectaron a los perfiles de AGPI-CL: en primer lugar, el grupo LH presentó mayor cantidad de 16:0 y menor de 18:1n-9 en los eritrocitos tal y como ocurría en el plasma, y en segundo lugar el grupo FAP presentó mayor cantidad de dimetilacetales especialmente en la fracción de fosfatidiletanolamina.

Los dimetilacetales son derivados de la transmetilación de plasmalógenos o alquil- y alquenil-glicerofosfolípidos. El papel fisiológico de los plasmalógenos no está claro aunque determinados autores han indicado que podrían desempeñar funciones importantes en los sistemas de transporte de iones, en el control de los movimientos del agua a través de las membranas y en la protección de las mismas frente al daño oxidativo (Alessandri *et al.*, 1991). La mayor cantidad de dimetilacetales en el grupo que recibió la fórmula suplementada se debe a la presencia de los mismos en la fuente de AGPI-CL empleada para la fabricación de la fórmula.

CONCLUSIONES

1ª) Los hábitos dietéticos de la madre gestante influyen en la composición en ácidos grasos esenciales, saturados y monoinsaturados de la leche materna y ésta, a su vez, influye en la composición de estos ácidos grasos en el plasma de la descendencia.

2ª) El análisis de la composición en ácidos grasos plasmática parece ser un mejor marcador del estado de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en los recién nacidos de bajo peso que la composición eritrocitaria, al contrario de lo que se ha descrito para los recién nacidos a término. Los cambios observados en la composición de ácidos grasos plasmáticos son menos drásticos en la membrana eritrocitaria probablemente debido a la práctica habitual de tratar a estos niños con concentrados de hematíes, hecho muchas veces inevitable dado su grado de prematuridad.

3ª) Los recién nacidos de bajo peso alimentados con una fórmula láctea que contiene ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de las series n-6 y n-3 mejoran el estado nutricional de ácido araquidónico y docosahexaenoico plasmáticos en comparación con los niños alimentados con una fórmula convencional.

4ª) El suministro de 0.4% de la energía de la dieta en forma de ácido docosahexaenoico es suficiente para alcanzar en los niños de bajo peso alimentados con fórmula, proporciones de este ácido graso en plasma similares a las encontradas en niños que recibieron leche humana. Sin embargo, la ingesta de un 0.6% de la energía como ácido araquidónico en la fórmula, aunque mejora el estado de este ácido graso a nivel plasmático, es insuficiente para mantener las cantidades encontradas en el grupo alimentado con leche humana.

5º) La suplementación de fórmulas para recién nacidos de bajo peso con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de las series n-6 y n-3 estabilizados con dl-α-tocoferol no afecta negativamente ni el crecimiento ni la capacidad antioxidante plasmática en estos niños. Además, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga utilizados en el estudio podrían ejercer un efecto promotor del crecimiento, especialmente en niños de peso inferior al nacimiento de 1500 g, ya que la velocidad de crecimiento fue superior en este subgrupo de niños.

BIBLIOGRAFÍA

Ackman RG, Ratnayake WMN, Macpherson EJ. EPA and DHA contents of encapsulated fish oil product. J Am Oil Chem Soc 1989, 66:1162.

Agostoni C, Riva E, Trojan S, Bellù R, Giovannini M. Docosahexaenoic acid status and developmental quotient of healthy term infants. The Lancet 1995a, 346:638.

Agostoni C, Trojan S, Bellù R, Riva E, Bruzzese G, Giovannini M. Developmental quotient and LC-PUFA feeding of healthy term infants at four months. 2nd International Congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL), Bethesda, Marylnad USA, 1995b.

Alessandri JM, Guesnet PH, Arfi TS, Durand G. Changes in fatty acid composition during all differentiation in the small intestine of suckling piglets. Biochim Biophys Acta 1991, 1086:340-348.

American Academy of Pediatrics (AAP). Committee on Nutrition. Necesidades nutritivas de los recién nacidos de bajo peso. Pediatrics (ed. esp.) 1985, 19:340-350.

Anderson GJ, Connor WE. Accretion of n-3 fatty acids in the brain and the retina of chicks fed a low-linolenic acid diet supplemented with docosahexaenoic acid. Am J Clin Nutr 1994, 59:1338-1346.

Arbuckle LD, Innis SM. Docosahexaenoic acid is transferred through maternal diet to milk and tissues of natural milk-fed piglets. J Nutr 1993, 123:1668-1675.

Arbuckle LD, Rioux FM, Mackinnon MJ, Hrboticky N, Innis SM. Response of (n-3) and (n-6) fatty acids in piglet brain, liver and plasma to increasing, but low, fish oil supplementation of formula. J Nutr 1991, 121:1536-1547.

Arbuckle LD, Mackinnon MJ, Innis SM. Formula 18:2(n-6) and 18:3(n-3) content and ratio influence long-chain polyunsaturated fatty acids in the developing piglet liver and central nervous system. J Nutr 1994, 124:289-298.

Auestad N, Montalto MB, Wheeler RE, Fitzgerald KR, Hall RT, Neuringer, Connor WE, Hartmann EE, Taylor JA. Visual acuity, RBC fatty acids and growth in term infants fed formulas with and without long chain polyunsaturated fatty acids (LCP). Pediatr Res 1995, 37:302A.

Ballard JL, Novak KK, Driver M. A simplified score for assessment of fetal maturation of newly born infants. J pediatr 1979, 95:769-774.

Bayon Y, Croset M, Chirouze V, Tayot JL, Lagarde M. Phospholipid molecular species from human placenta lipids. Lipids 1993, 23:631-636.

Bazan NG, Scott BL. Dietary omega-3 fatty acids and accumulation of docosahexaenoic acid in rod photoreceptor cells of the retina and at synapses. Upsala J Med Sci 1990, 48:97-107.

Billeaud C, Bouglé D, Sarda P, Combes N, Mazette S, Entressangles B, Saneler B, Descomps B, Nouvelot A, Mendy F. A multicentric study: Effect of linolenate supplementation in preterm infants formulas on plasma or red blood cell (RBC). Pediatr Res 1993, 33(4):299A.

Birch DG, Birch EE, Hoffman DR, Uauy R. Retinal development in very-low-birth-weigth infants fed diets differing in omega-3 fatty acids. Invest Ophthamol Visual Sci 1992a, 33:2365-2376.

Birch EE, Birch DG, Hoffman DR, Uauy R. Dietary essential fatty acid supply and visual acuity development. Invest Ophthamol Visual Sci 1992b, 33:3242-3253.

Birch EE, Birch DG, Hoffman DR, Hale L, Everett M, Uauy R. Breast-feeding and optimal visual development. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 1993, 30:33-38.

Bitman J, Wood DL, Hamosh M, Hamosh P, Mehta NR. Comparison of the lipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants. Am J Clin Nutr 1983, 38:300-313.

Bitman J, Wood DL, Mehta NR, Hamosh P, Hamosh M. Comparison of the phospholipid

composition of breast milk from mothers of term and preterm infants during lactation. Am J Clin Nutr 1984, 40:1103-1119.

Bitman J, Freed LM, Neville MC, Wood DL, Hamosh P, Hamosh M. Lipid composition of prepartum human mammary secretion and postpartum milk. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1986, 5:608-615.

Bjerve KS, Mostad IL, Thorensen L. Alpha-linolenic acid deficiency in patients on long-term gastric-tube feeding: estimation of linolenic acid and long-chain unsaturated n-3 fatty acid requirement in man. Am J Clin Nutr 1987, 45:66-77.

Bjerve KS, Fischer S, Wammer F, Egeland T. α-Linolenic acid and long chain w-3 fatty acid supplementation in three patients with w-3 fatty acid deficiency: effect on lymphocyte function, plasma and red cell lipids and prostanoid formation. Am J Clin Nutr 1989, 49:290-300.

Bjerve KS, Bubakk AM, Fougner KJ, Johnsen H, Midthjell K, Torstein V. Omega-3 fatty acids: essential fatty acids with important biological effects, and serum phospholipid fatty acids as markers of dietary omega-3 fatty acid intake. Am J Clin Nutr 1993, 57:801S-806S.

Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol 1959; 37:911-917.

Boehm G, Moro G, Minoli I. Colesterol de las fórmulas adaptadas. Ventajas metabólicas y nutricionales. En: Nuevas Perspectivas en Nutrición Infantil. Borrajo E, López M, Pajarón M, Morán J (eds) Simposium Internacional. Ergón 1993, 281-293.

Boersma ER, Offringa PJ, Muskiet FAJ, Chase WM. Vitamin E, lipid fractions, and fatty acid composition of colostrum, transitional milk, and mature milk: an international collaborative study. Am J Clin Nutr 1991, 53:1197-1204.

Booth C, Elphick MC, Hendrickse W, Hull D. Investigation of ^{14}C linoleic acid conversion into ^{14}C arachidonic acid and placental transfer of linoleic acid and palmitic acids across the perfused

human placenta. J Dev Physiol 1981, 92:945-952.

Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti, Pascal G, Durand G. The effects of dietary α-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poison, and performance of learning tasks in rats. J Nutr 1989. 119:1880-1892.

Bourre JM, Dumont O, Durand G. Brain phospholipids as dietary source of (n-3) polyunsaturated fatty acids for nervous tissue in the rat. J Neurochem 1993, 60:2018-2028.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-254.

Brenner RR. The desaturation steps in the animal biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. Lipids 1971, 6:567-575.

Brenner RR. Endocrine control of fatty acid desaturation. Biochem Soc Transac 1990, 18:773-775.

Brenner RR, Peluffo RO. Effect of saturated and unsaturated fatty acids on the desaturation in vitro of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acids. J Biol Chem 1966, 241:5213-5219.

Brindley DN. Hepatic secretion of lysophosphatidylcholine: a novel transport system for polyunsaturated fatty acids and choline. J Nutr Biochem 1993, 4:442-449.

British Nutrition Foundation. Unsaturated fatty acids. Nutritional and physiological Significance. London: Chapman Hill. 1992.

Budowski P, Crawford MA. Alpha-linolenic acid as a regulator of the metabolism of arachidonic acid: Dietary implications of the ratio n-6:n-3 fatty acids. Proc Nutr Soc 1985, 44:221-229.

Burton GW, Ingold KV, Thompson KE. An improved procedure for the isolation of ghost

membranes from human red blood cells. Lipids 1981; 16: 946-950.

Burr GO, Burr MM. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. J Biol Chem 1929, 82:345-367.

Burr GO, Burr MM. On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition. J Biol Chem 1930, 86:587-621.

Calvo M, Naval J, Lampreave F, Uriel J, Pineiro A. Fatty acids bound to α-protein and albumin during rat development. Biochim Biophys Acta 1988, 959:228-246.

Cañas P, Guerra R, Valenzuela A. Antioxidant properties of hypotaurine: comparison with taurine, glutathione and ß-alanine. Nutrition Reports International 1989, 39(2):433-438.

Carlson SE. Lipid requirements of very low birth weight infants for optimal growth and development. En: Lipids, Learning and the Brain: Fats in Infant Formulas. Dobbing J, Benson J (eds). Report of the 103rd Ross Conference on Pediatric Research. Columbus, OH: Ross Laboratories, 1993:188-207.

Carlson SE, Salem N Jr. Essentiality of omega-3 fatty acids in growth and development of infants. En: Health effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids in seafoods. Simopoulos AP, Kifer RR, Barlow SM (eds) World Rev Nutr Diet. Basel, Karger 1991, 66:74-86.

Carlson SE, Wilson WW. Docosahexaenoic acid (DHA) supplementation of preterm (PT) infants: effect on the 12-month Bayley mental development (MDI). Pediatr Res 1994, 35:20A.

Carlson SE, Cooke RJ, Rhodes PG, Peeples JM, Werkman SH. Effect of vegetable and marine oils in preterm infant formulas on blood arachidonic and docosahexaenoic acids. J Pediatr 1992b, 120:S159-S167.

Carlson SE, Cooke RJ, Rhodes PG, Peeples JM, Werkman SH, Tolley EA. Long-term feeding of formulas high in linolenic acid and marine oil to very low birth weight infants:

Phospholipid fatty acids. Pediatr Res 1991, 30:404-412.

Carlson SE, Cooke RJ, Werkman SH, Tolley EA. First year growth of preterm infants fed standard compared to marine oil n-3 supplemented formula. Lipids 1992a, 27:901-907.

Carlson SE, Ford AJ, Peeples JM, Werkman SH. Visual acuity in term infants fed human milk or randomly assigned to a formula with or without long chain n-3 and n-6 fatty acids. Pediatr Res 1995, 37:303A.

Carlson SE, Rhodes PG, Ferguson MG. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. Am J Clin Nutr 1986, 44:798-804.

Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM, Cooke RJ, Tolley EA. Arachidonic acid status correlates with first year growth in preterm infants. Proc Natl Ac Sci USA 1993, 90:1073-1077.

Carnielli VP, Pederzini F, Luijendijk IHT, Bomaars WEM, Boerlage A, Degenhart HJ, Pedrotti D, Sauer PJJ. Long chain polyunsaturated fatty acid in low birth weight formula at levels found in human colostrum. Pediatr Res 1994a, 33:309A.

Carnielli VP, Wattimena DJL, Luijendijk IHT, Boerlage A, Degenhart HJ, Sauer PJJ. Chain elongation and desaturation of linoleic (LL) and linolenic (LN) acid in the VLBW infant: Effect of dietary long chain polyunsaturated fatty acids (LCP). Pediatr Res 1994b, 33:309A.

Carroll K. Upper limits of nutrients infant formulas: polyunsaturated fatty acids and *trans* fatty acids. J Nutr 1989, 119:1810-1813.

Chambaz J, Ravel D, Manier MC, Pepin D, Mulliez N, Béréziat G. Essential fatty acids interconversion in the human fetal liver. Biol Neonate 1985, 47:136-140.

Christiansen N, Lund JS, Ortveit T, Rustan C. Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in rat liver. Biochim Biophys Acta 1991, 1082:57-62.

Clandinin MT, Chappell JE, Aerde JEE. Requirements of newborn infants for long chain polyunsaturated fatty acids. Acta Paediatr Scand 1989 (Suppl) 351:63-71.

Clandinin MT, Chappell JE, Heim T. Do low weight infants require nutrition with chain elongation-desaturation products of essential fatty acids?. Prog Lip Res 1981b, 20:901-904.

Clandinin MT, Chappell JE, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Fatty acid utilization in perinatal de novo synthesis of tissues. Early Hum Dev. 1981a, 5:355-366.

Clandinin MT, Chappell JE, Hern T. Do low weight infants require nutrition with chain elongation desaturation products of essential fatty acids? En: Essential Fatty Acids and Prostaglandins. Holman RD (ed) New York Pergamon Press 1982, 901-915.

Clandinin MT, Chappell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: Implications for fatty acid requirements. Ear Hum Dev 1980, 4:121-129.

Clandinin MT, Cheema S, Field CJ, Garg ML, Venkatraman JM, Clandinin TR. Dietary fat: Exogenous determination of membrane structure and cell function. FASEB J 1991, 5:2761-2769.

Clandinin MT, Parrot A, Van Aerde JE, Hervada AR, Lien E. Feeding preterm infants a formula containing C_{20} and C_{22} fatty acids simulates plasma phospholipid fatty acid composition of infants fed human milk. Early Hum Dev 1992, 31:41-51.

Clandinin MT, Wong K, Hacker RG. Synthesis of chain elongation-desaturation products of linoleic acid by liver and brain microsomes during development of the pig. Biochem J 1985, 226:305-309.

Clark RM, Hundrieser KE. A lack of correlation among fatty acids associated with different lipid classes in human milk. Lipids 1993, 28:157-159.

Clark KJ, Makrides M, Neumann MA, Gibson RA. Determination of the optimal ratio of linoleic acid to alpha-linolenic acid in infant formulas. J Pediatr 1992, 120(Suppl):S151-S158.

Coleman RA. Placental metabolism and transport of lipid. Fed Proc 1986, 45:2519-2523.

Comisión de las Comunidades Europeas (CCE). Directiva 96/4/CE de la Comisión de 16 de Febrero de 1996 por la que se modifica la Directiva 91/321/CEE relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación. Diario Oficial de las Comunidades Europeas. Bruselas 1996, Nº L 49/12-16.

Cook HW. *In vitro* formation of polyunsaturated fatty acids by desaturation in rat brain: Some properties of the enzymes in developing brain and comparisons with liver. J Neurochem 1978, 30:1327-1334.

Canadian Paediatric Society (CPS). Committee on Nutrition. Feeding the low-birth-weight infant. Pediatrics 1985, 75:976.

Crawford MA, Hassam AG, Stevens PA. Essential fatty acid requirements in pregnancy and lactation with special reference to brain development. Prog Lipid Res 1981, 20:31-40.

Crawford MA, Hassam AG, Williams G, Whitehouse WL. Essential fatty acids and fetal brain growth. Lancet 1976, 1:452-453.

Dancis J, Jansen V, Kayden JH. Transfer across perfused human placenta II. Free fatty acids. Pediatr Res 1973, 7:192-197.

Dancis J, Jansen V, Kayden JH, Bjorson L, Levitz M. Transfer across perfused human placenta. III. Effect of chain length on transfer of free fatty acids. Pediatr Res 1974, 8:796-799.

Decsi T, Koletzko B. Polyunsaturated fatty acids in infant nutrition. Acta Paediatr 1994, 395(suppl):31-37.

Decsi T, Koletzko B. Growth, fatty acid composition of plasma lipid classes, and plasma retinol and α-tocopherol concentrations in full-term infants fed formula enriched with omega-6 and omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. Acta Paediatr 1995, 84:725-732.

DeGomez Dumm INT, Brenner RR. Oxidative desaturation of gamma-linolenic and stearic acids by human liver microsomes. Lipids 1975, 10:315-317.

DeLucchi 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 1988, 32:231-239.

Dubowitz LMS, Dubowitz V, Goldberg C. Clinical assesment of gestational age in the newborn infant. J Pediatr 1977; 77:1-10.

ESPGAN Committee on Nutrition of the Preterm Infant. Nutrition and feeding of preterm infants. Acta Paediatr Scand Suppl 1987, 336:1-14.

ESPGAN Committee on Nutrition. Committee report: Aggett PJ, Haschke F, Heine W, Hernell O, Koletzko B, Launiala K, Rey J, Rubino A, Schöch G, Senterre J, Tormo R. Comment on the content and composition of lipids in infant formulas. Acta Paediatr Scand 1991, 80:887-896.

FAO/WHO Expert Committee. Fats and oils in Human Nutrition. Food and Nutrition Paper No. 57. FAO, Rome, Italy. 1994.

Farquharson J, Cockburn F, Patrick WA, Jamieson EC, Logan RW. Infant cerebral cortex phospholipid fatty-acid composition and diet. Lancet 1992, 340:810-813.

Field CJ, Angel A, Clandinin MT. Relationship of diet to fatty acid composition of human adipose tissue structural and stored lipids. Am J Clin Nutr 1985, 42:1206.

Filer LJ, Mattson FH, Fomon SJ. Triglyceride configuration and fat absorption in the human

infant. J Nutr 1969, 99:293-298.

Fomon SJ, Nelson SE. Size and growth. En: Nutrition of Normal Infants. Craven, L. (ed) Mobsby-Year Book, Inc 1993, 4:36-84.

Foote KD, Hrboticky N, Mackinnon MJ, Innis SM. Brain synaptosomal, liver, plasma, and red blood cell lipids in piglets def exclusively on a vegetable-oil-containing formula with and without fish oil supplements. Am J Clin Nutr 1990, 51:1001-1006.

Foreman-van Drongelen MMHP, Houwelingen AC van, Kester ADM , Hasaart THM, Blanco CE, Honstra G. Long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm infants: Status at birth and its influence on postnatal levels. J Pediatr 1993; 126:611-618.

Fredrikson B, Hernell O, Bläckberg L, Olivecrona T. Bile salt-stimulated lipase in human milk: evidence of activity *in vivo* and a role in the digestion of milk retinol esters. Pediatr Res 1978, 12:1048-1052.

Friel J, McCloy U, Herzberg G, Andrews W, Courage M, Simmons B. Fatty acid composition of erythrocytes and visual acuity in term infants. Pediatr Res, 1995, 37:308A.

Galli C, Trzeciak HI, Paoletti R. Effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of brain ethanolamine phosphoglyceride: Reciprocal replacement of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. Biochim Biophys Acta 1971, 248:449-454.

Garda HA, Brenner RR. Short chain aliphatic alcohols increase rat liver microsome membrane fluidity and effect the activities of some microsomal membrane-bound enzymes. Biochim Biophys Acta 1984, 769:160-170.

Gibson RA, Kneebone GM. Fatty acid composition of human colostrum and mature breast milk. Am J Clin Nutr 1981, 34:252-257.

Gibson RA, Kneebone GM. A lack of correlation between linoleate and arachidonate in human

breast milk. Lipids 1984, 19:469-480.

Gibson R, Makrides M, Neumann M, Simmer K. Dietary docosahexaenoic acid (DHA) and the development of visual acuity in term infants fed breast milk or formula. INFORM 1995, 6:531.

Green P, Yavin E. Elongation, desaturation and esterification of essential fatty acids by fetal rat brain *in vivo*. J Lipid Res 1993, 34:2099-2107.

Hamosh M. Enzymes in human milk: Their role in nutrient digestion, gastrointestinal function, and nutrient delivery to the newborn infant. En: Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy. Lebenthal E (ed) 2nd ed Raven Press. New York. 1989, 121-134.

Hamosh M, Bitman J, Wood DL, *et al.* Lipids in milk and first steps in their digestion. Pediatrics 1985, 75 (suppl):146-150.

Hamosh M, Iverson SJ, Mehta NR, Spear ML, Bitman J. Lipids in human milk and their digestion by the newborn infant. En: Essential Fatty Acids and Infant Nutrition. Ghisolfi J, Putet G, (eds) John Libbey Eurotext, Paris 1992, 119-137.

Hansen AE, Wiese HF, Boelsche AN, *et al.* Role of linolenic acid in infant nutrition. Pediatrics 1963, 31:171.

Hartmann EE, Neuringer M. Longitudinal behavioral measures of visual acuity in full-term human infants fed different dietary fatty acids. Invest Ophthalmol Vis Sci 1995, 36:S869.

Harzer G, Haug M, Dieterich I, Gentner PR. Changing patterns of human milk lipids in the course of lactation and during the day. Am J Clin Nutr 1983, 37:612-621.

Hoffman DR, Uauy RD. Essentiality of dietary omega-3 fatty acids for premature infants: plasma and red blood cell fatty acid composition. Lipids 1992, 27:886-895.

Holman RT. Nutritional and biochemical evidences of acyl interaction with respect to essential

polyunsaturated fatty acids. Prog Lip Res 1986, 25:29-39.

Holman RT, Johnson SB, Hatch TF. A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. Am J Clin Nutr 1982, 35:617-623.

Houwelingen AC van, Puls J, Honstra G. Fetal essential fatty acid (EFA) status during early human development: relation with maternal EFA status. (Abstract) Am J Clin Nutr 1993c, 57(sppl):814S.

Hrboticky N, Mackinnon MJ, Innis SM. Effect of a vegetable oil formula rich in linoleic acid on tissue fatty acid accretion in the brain, liver, plasma, and erythrocytes of infant piglets. Am J Clin Nutr 1990, 51:173-182.

Huang YS, Smith RS, Redden PR, Cantrill RC, Horrobin DF. Modification of liver fatty acid metabolism in mice by n-3 and n-6 delta-6 desaturase substrates and products. Biochim Biophys Acta 1991, 1082:319-327.

Hundrieser KE, Clark RM, Brown PB. Distribution of *trans* octadecanoic acid in the major glycerolipids of human milk. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1983, 2:635-639.

Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. Prog Lipid Res 1991, 30:39-103.

Innis SM. Human milk and formula fatty acids. J Pediatr 1992, 120:S56-S61.

Innis SM. Insights into possible mechanisms of essential fatty acid uptake into developing brain from studies of diet, circulating lipid, liver, and brain n-6 and n-3 fatty acids. En: Lipids, Learning, and the Brain: Fats in Infant formulas. Report of the 103rd Ross Conference on Pediatric Research. Published by Ross Laboratories, Columbus OH, USA, 1993, 4-26.

Innis SM. The 1993 Borden Award Lecture. Fatty acid requirements of the newborn. Can J Physiol Pharmacol 1994, 72:1483-1492.

Innis SM, Diersen-Schade DA, Akrabawi SS. Prospective evaluation of preferential looking acuity in healthy term infants fed infant formula or breast-fed. Pediatr Res 1995a, 37:310A.

Innis SM, Foote KD, Mackinnon MJ, King DJ. Plasma and red blood fatty acids of low-birth-weight infant fed their own mother's expressed breast milk or preterm-infant formula. Am J Clin Nutr 1990, 51:994-1000.

Innis SM, Nelson CM, Rioux FM, King DJ. Development of visual acuity in relation to plasma and erythrocyte n-6 and n-3 fatty acids in healthy term gestation infants. Am J Clin Nutr 1994a, 60:347-352.

Innis SM, Nelson CM, Rioux FM, Waslen P. Dietary docosahexaenoic acid is not essential for development of preferential looking (visual) acuity in term gestation infants fed infant formula with adequate alpha linolenic acid. Pediatr Res 1994b, 35(4):313A.

Innis SM, Nelson CM, Rioux FM, Waslen P, Lwanga D. Visual acuity, cognitive development and nutrition in term infants. Pediatr Res 1995b, 37:310A.

ISSFAL Board of Directors. Recommendations for essential fatty acid requirement for infant formulae. ISSFAL Newsletter 1994, 1:4-5.

Jaarsveld van PJ, Tichelaar HY, Dhansay MA, Smuts CM, Faber M, Staden van E, Benadé AJS. The essential fatty acid status of pregnant women from a community with low socio-economic status. Med Sci Res 1994, 22:719-721.

Janowsky JS, Scott DT, Wheeler RE, Auestad N. Fatty acids effects early language development. Pediatr Res 1995, 37:37:310A.

Jensen RG. The lipids of human milk. Boca Raton, Fla: CRC Press 1989a.

Jensen RG. Lipids in human milk: Composition and fat soluble vitamins. En: Textbook of Gastroenterology in Infancy. Lebenthal E (ed) New York: Raven 2nd ed 1989b, 157-208.

Jensen RG, Ferris AM, Lammi-Keefe CL, Henderson RA. Lipids of bovine and human milk: A comparison. J Dairy Sci 1990, 73:223-240.

Jensen RG, Ferris AM, Lammi-Keefe CL. Lipids in human milk and infants formulas. Annu Rev Nutr 1992a, 12:417-441.

Jensen RG, Lammi-Keefe CL, Henderson RA, Bush VJ, Ferris AM. Effect of dietary intake of n-6 y n-3 fatty acids on the fatty acid composition of human milk in North America. J Pediatr 1992b, 120:S87-S92.

Jiang Z, Sim JS. Effects of dietary n-3 fatty acid-enriched chicken eggs on plasma and tissue cholesterol and fatty acid composition of rats. Lipids 1992, 27:279-284.

Jiménez López J. Perfil de ácidos grasos tisulares y lipoperoxidación durante el periodo postnatal en cerdos. Influencia de la suplementación a la dieta de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. 1992.

Jorgesen MH, Hernell O, Holmer G, Michaelsen KF. Breast-fed term infants have better visual than formula-fed infants at two and four months of age. INFORM 1995, 6:530.

Kattermann R, Jaworek D, Moeller G, *et al.* Multicenter study of a new enzymic method of cholesterol determination. J Clin Chem Biochem, 1984; 22:245-251.

Kohn G. Human milk and fatty acids: quantitative aspects. En: Essential Fatty acids and Infant Nutrition. Ghisolfi J, Putet G. (eds) John Libbey Eurotext, Paris 1992, 79-88.

Kolarovic L, Fournier NC. A comparison of extraction methods for the isolation of phospholipids from biological sources. J Ann Biochem 1986; 156:244-250.

Koletzko B. Essentiale Fettsäurn: Bedeutung für Medizin und Ernährung. Akutuel Endokrinol Stoffwechsel 1986, 7:18.

Koletzko B. Omega-3-fatty acids requirements. Am J Clin Nutr 1987, 46:374-377.

Koletzko B, Braun M. Arachidonic acid and early human growth: Is there a relation? Ann Nutr Metab 1991, 35:128-131.

Koletzko B, Bremer HJ. Fat content and fatty acid composition of infant formulae. Acta Paediatr Scand 1989, 78:513-521.

Koletzko B, Cunnane SC. Human alpha-linolenic acid deficiency. Am J Clin Nutr 1988, 47:1084-1085.

Koletzko B, Mrotzek M, Bremer HJ. Fatty acid composition of mature human milk in Germany. Am J Clin Nutr 1988, 47:954-959.

Koletzko B, Schmidt E, Bremer HJ, Haug M, Harzer G. Effects of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids on the essential fatty acid status of premature infants. Eur J Pediatr 1989, 148:669-675.

Koletzko B, Thiel I, Abiodum PO. Fatty acid composition of mature human milk in Nigeria. Z Ernährungswiss 1991, 30:289-297.

Koletzko B, Thiel I, Abiodum PO. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. J Pediatr 1992, 120:S62-S70.

Kyle DJ, Makrides M, Gibson R, Carnielli V, Sauer P. The role of dietary docosahexaenoic acid in perinatal nutrition. Abstract of 20th Clinical Congress, Washington, DC USA. J Parent Ent Nutr 1996, 20:23S.

Lampreave F, Calvo M, Naval J, Pineiro A. Long-chain fatty acids bound to α-fetoprotein and albumin from fetal and adult pig. Comp Biochem Physiol 1982, 73B:823-827.

Lamptey MS, Walker BL. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development

of young rat. J Nutr 1976, 106:86-93.

Leaf AA, Leighfield MJ, Costeloe KL, Crawford, MA. Factors, affecting long-chain polyunsaturated fatty acids composition of plasma choline phosphoglycerides in preterm infants. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1992, 14:300-308.

Leikin A, Brenner R. Regulation of linoleic acid delta-6 desaturase by a lipoprotein-like fraction in isolated rat liver microsomes. Biochim Biophys Acta 1986, 876:300-308.

Leikin A, Brenner R. Cholesterol-induced microsomal changes modulate desaturase activities. Biochim Biophys Acta 1987, 922:294-303.

Leikin A, Brenner R. *In vivo* cholesterol removal from liver microsomes induces changes in fatty acids desaturase activities. Biochim Biophys Acta 1988, 963:311-319.

Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. J Lipid Res 1986; 27: 114-120.

Levy E, Thibault L, Garofalo C, Messeir M, Lepage G, Ronco N, Roy CC. Combined (n-3 and n-6) essential fatty acid deficiency is a potent modulator of plasma lipids, lipoprotein composition and lipolytic enzymes. J Lip Res 1990, 31:2009-2017.

Li J, Wetzel M, O'Brien P. Transport of n-3 fatty acids from the intestine to the retina in rats. J Lip Res 1992, 33:539-548.

Lin DS, Anderson GJ, Connor WE, Neuringer M. Effect of dietary n-3 Fatty acids upon the phospholipid species of the monkey retina. Invest Ophthamol Vis Sci 1994, 35:794-803.

Lindholm M, Eklund A. The effect of dietary protein on the fatty acid composition and delta-6 desaturase activity of rat hepatic microsomes. Lipids 1991, 26:107-109.

Liu CCF, Carlson SE, Rhodes PG, Rao VS, Meydrech EF. Increase in plasma phospholipid

docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids as reflection of their intake and mode of administration. Pediatr Res 1987, 22:292-296.

López-Pedrosa JM. Contribución de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la dieta a la reparación tisular en cerdos malnutridos durante el periodo neonatal. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. 1995.

Lubchenco LO. Determinación del peso y la edad gestacional. En: Neonatología. Fisiopatología y Manejo del Recién Nacido. Avery GB (ed). Inter-Médica (2º ed). Buenos Aires. Argentina 1983, 201-220.

Lucas A, Morley R, Cole TJ, Gore SM. A randomized multicentre study of human milk versus formula and later development in preterm infant. Arch Dis Child 1994, 70:F141-F146.

Macala LJ, Yu RK, Ando S. Analysis of brain lipids by high performance thin layer chromatography and densitometry. J Lipid Res 1983; 24: 1243-1249.

Macy IG, Kelly HJ. Human milk and cow milk in infant nutrition. En: The mammary gland and its secretion. Kon SK, Cowie AT (eds) New York. Academic Press 1961, 2:265.

Makrides M, Neuman MA, Byard RW, Simmer K, Gibson RA. Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula -fed infants. Am J Clin Nutr 1994, 60:189-194.

Makrides M, Neuman MA, Simmer K, Gibson RA. Length of breast feeding influences the development of visual evoked potential (VEP) acuity in healthy, term infants. Pediatr Res, 1995a, 37:128A.

Makrides M, Neuman MA, Simmer K, Patter J, Gibson RA. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? The Lancet 1995b, 345:1463-1468.

Makrides M, Simmer A, Goggin M, Gibson RA. Erythrocyte docosahexaenoic acid correlates with the visual response of healthy, term infants. Pediatr Res 1993, 33:425-427.

Marra CA, Alaniz MJT, Brenner RR. Modulation of delta-6 and delta-5 rat liver microsomal desaturase activities by dexamethasone-induced factor. Biochim Biophys Acta 1986, 879:388-393.

Marra CA, Alaniz MJT, Brenner RR. A dexamethasone-induced protein stimulates delta-9 desaturase activity in rat liver microsomes. Biochim Biophys Acta 1988, 958:93-98.

Martínez M. Developmental profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain of the normal infants and patients with peroxisomal diseases: Severe deficiency of docosahexaenoic acid in Zellweger's and pseudo-Zellweger's syndromes. En: Health Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods. Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE, Barlow SM (eds) World Rev Nutr Diet 1991, 66:87-102.

Monique DM, Houwelingen AC van, Honstra G. Essential fatty acids, pregnancy and pregnancy outcome. En: Fatty Acids and Lipids from Cell Biology to Human Disease. 2nd International Congress of the ISSFAL International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. 1995.

Moore SA, Yoder E, Murphy S, Dutton GR, Spector AA. Astrocytes, not neurons, produce docosahexaenoic acid (22:6n-3) and arachidonic acid (20:4n-6). J Neurochem 1991, 56:518-524.

Moore SA, Yoder E, Spector AA. Role of the blood-brain barrier in the formation of long-chain omega-3 and omega-6 fatty acids from essential fatty acid precursors. J Neurochem 1990, 55:391-402.

Needleman P, Raz A, Minkes MS, Ferrendelli JA, Sprecher H. Triene prostaglandins: prostacyclin and thromboxane synthesis and unique biological properties. Proc Natl Acad Sci USA 1979, 76:944-948.

Neuringer M, Connor WE. n-3 fatty acids in the brain and retina: Evidence for their essentiality. Nutr Rev 1986, 44:285-294.

Neuringer M, Connor WE, Petten CV, Barstad L. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkeys. J Clin Invest 1984, 73:272-276.

Neuringer M, Fitzgerald KM, Weleber RG, Murphey WH, Giambrone SA, Cibis GW, Arends J. Electroretinograms in four-month-old full term human infants fed diets differing in long-chain n-3 and n-6 fatty acids. Invest Ophthalmol Vis Sci 1995, 36:S48.

Norum KR, Christiansen EN, Christophersen BO, Bremer J. Metabolic and nutritional aspects of long-chain fatty acids of marine origin. En: The Role of the Fats in Human Nutrition. ed 2. Vergroesen AJ, Crawford M (eds). San Diego: Academic Press 1989, 117-149.

Nutrition Committee, Canadian Paediatr Society (NCCPS). Nutrient needs and feeding of premature infants. Can Med Assoc J 1995, 152(11):1765-1795.

Organización Mundial de la Salud (OMS). International classification of diseases: manual of the international statistical classification of diseases, injuries, and causes of death. Ninth Revision. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1977.

Organización Mundial de la Salud (OMS). Código internacional de comercialización de sucedáneos de la leche materna. Ginebra, 1981.

Parrish CC. Polyunsaturated triacylglycerol production by marine microalgae. (Abstract) Meeting of the Phycological Society of America with AIBS. Iowa State University. 1993.

Pax J, Douglass L, Sampugna J. Effects of linolenic and *trans* fatty acids on the neonatal survival of C57BL/6 mice. J Nutr Biochem 1992, 3:342-348.

Peluffo RO, Gomez Dumm INT, Alaniz MJT, Brenner RR. Effect of protein and insulin on linoleic acid desaturation of normal and diabetic rats. J Nutr 1971, 101:1075-1083.

Pita ML, Girón MD, Pérez-Ayala M, DeLucchi C, Martínez-Valverde A, Gil A. Effects of postnatal age and diet on plasma lipid fractions in preterm infants. Clin Physiol Biochem 1989, 7:238-248.

Ponder DL, Innis SM, Benson JD, Siegman JS. Docosahexaenoic acid status of term infants fed breast milk or infant formula containing soy oil or corn oil. Pediatr Res 1992, 32:683-688.

Portman OW, Berhman EE, Soltys P. Transfer of fatty acids across the primate placenta. Am J Physiol 1969, 216:143-147.

Putnam JC, Carlson SE, De Voe PW, Barness LA. The effect of variations in dietary fatty acids on fatty acid composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in human infants. Am J Clin Nutr 1982 36:106-114.

Ramírez González M. Acidos grasos plasmáticos y eritrocitarios en niños recién nacidos pretérmino y con retraso del crecimiento intrauterino. Efecto de los lípidos y de los nucleótidos de la dieta. Tesis Doctoral. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Granada. 1992.

Ravel D, Chambaz J, Pepin D, Manier MC, Bereziat G. Essential fatty-acid interconversion during gestation int the rat. Biochim Biophys Acta 1985, 833:161-164.

Rioux FM, Innis SM. Arachidonic acid concentrations in plasma and liver phospholipid and cholesterol esters of piglets raised on formulas with different linolenic acid contents. Am J Clin Nutr 1992, 56:106-112.

Rioux FM, Innis SM, Lupton B, Nelson CM, Waslen P, Whirfield M. Cognitive and visual development, psychomotor performance and growth in term compared to preterm infant. Pediatr Res 1995, 37:317A.

Ruyle M, Connor WE, Anderson GJ, Lowensohn RI. Placental transfer of essential fatty acids in humans: Venous-arterial difference for docosahexaenoic acid in fetal umbilical erythrocytes.

Proc Natl Acad Sci USA 1990, 87:7902-7906.

Salem N Jr, Weher B, Mena P, Uauy R. Arachidonic and docosahexaenoic acids are biosynthetized from their 18-carbon precursors in human infants. Proc Natl Acad Sci 1996, 93:49-54.

Sánchez-Pozo A, Gil A. Influence of dietary nucleotides on neonatal lipoprotein metabolism. En: Nutritional and Biological Significance of Dietary Nucleotides and Nucleic Acids. Gil A, Uauy R (eds) Abbott Laboratories 1996, 133-144.

Sanders TAB, Naismith DJ. A comparison of the influence of breast-feeding and bottle-feeding on the fatty acid composition of the erythrocytes. Br J Nutr 1979, 41:619-623.

Sanders TAB, Naismith DJ. The metabolism of metabolism of α-linolenic acid by the foetal rat. Br J Nutr 1980, 44:205-208.

Sanders TAB, Reddy S. The influence of a vegetarian diet on the fatty acid composition of human milk and the essential fatty acid status of the infant. J Pediatr 1992, 120:S71-S77.

Sawatzki G. Omega-3 and omega-6 fatty acid supplementation in infant formulas. En: Essential Fatty Acids and Infant Nutrition. Ghisolfi J, Putet G (eds) John Libbey Eurotext Paris 1992, 165-171.

Sawatzki G, Georgi G, Kohn G. Fórmulas adaptadas: aspectos tecnológicos. En: Nuevas Perspectivas en Nutrición Infantil. Borrajo E, López M, Pajarón M, Morán J (eds) Simposium Internacional. Ergón 1993, 61-69.

Scott BL, Bazan NG. Membrane docosahexaenoate is supplied to the developing brain and retina by the liver. Proc Natl Acad Sci USA 1989, 86:2903-2907.

Sinclair AJ. Incorporation of radiactive polyunsaturated fatty acids into liver and brain of developing rats. Lipids 1975, 10:174-184.

Skipski VP, Barclay M. Thin layer chromatography of lipids. En: Methods in Enzymology. Lowenstein JM, (ed). Academic Press, New York. 1969, 14:530-598.

Steck TL, Kant JA. Preparation of impermeable ghosts inside-out vesicles from human erythrocyte membranes. En: Fleischer S, Packer L (eds). Methods in Enzymology, Academic Press, New York 1973, 31:172-179.

Svennerholm, L. Distribution and fatty acid composition of phosphoglycerides in normal human brain. J Lipid Res 1968, 9:570-579.

Temboury MC, Otero A, Polanco I, Arribas E. Influence of breast-feeding on the infant's intellectual development. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1994, 18:32-36.

Thies F, Delachambre MC, Bentejac M, Lagarde M, Lecerf J. Unsaturated fatty acids esterified in 2-acyl-1-lysophosphatidylcholine bound to albumin are more efficiently taken up by the young rat brain than in the unesterified form. J Neurochem 1992, 59:1110-1116.

Tomansson HJ. Biological standardization of essential fatty acids (a new method). Int J Vitam Nutr Res 1953, 31:171.

Tomarelli RM. Suitable fat formation for infant feeding. En: Dietary fat Requirements in Health and Development. Beare-Rogers J (ed) Champaign II: Am Oil Chem Soc 1988, 1-27.

Tomarelli RM, Meyer BJ, Weaber JR, Beruhart FW. Effect of positional distribution on the absorption of fatty acids of human milk and infant formula. J Nutr 1968, 95:583-590.

Tsang RC, Nichols BL. Nutrient content of infants formulas. En: Nutrition during the infancy. Tsang RC, Nichols BL (eds) Philadelphia: Hanley & Belfus 1988, 133-159.

Uauy R, Hoffman DR. Essentiality of dietary omega-3 fatty acids for premature infants: Plasma and red blood cell fatty acid composition. Lipids 1992, 27:886-895.

Uauy R, Birch DG, Birch EE, Tyson JE, Hoffman DR. Effect of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very-low-birth-weight neonates. Pediatr Res 1990, 28:485-492.

Uauy R, Hoffman DR, Birch EE, Birch DG, Jameson DM, Tyson JE. Safety and efficacy of omega-3 fatty acids in the nutrition of very low birth weight infants: Soy oil and marine oil supplementation of formula. J Pediatr 1994, 124:612-620.

Ulmann L, Blond JP, Maniongui C, Poisson JP, Durand G, Bezard J, Pascal G. Effects of age and dietary essential fatty acids on desaturase activities and on fatty acid composition of liver microsomal phospholipids of adult rats. Lipids 1991, 26:127-133.

Villacampa MJ, Casaus Pemán C, Grande Covián F. Composición en ácidos grasos del calostro y leche madura en España. An Esp Pediatr 1982, 16(4):324-335.

Von Groer F. Zur Frage der praktischen Bedeutoung des Nährwertbegriffes nebst einigen Bemerkungen über das Fettminimun des menschlichen Säuglings. Biochem Z 1919, 97:311-329.

Voss A, Reinhart M, Sankarappa S, Sprecher H. The metabolism of 7, 10, 13, 16, 19-docosapentaenoic acid to 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. J Biol Chem 1991, 266:19995-20000.

Wall KM, Diersen-Schade D, Innis SM. Nonessential fatty acids in formula fat bleeds influence essential fatty acid metabolism and composition in plasma and organ lipid classes in piglets. Lipids 1992, 27:10245-1031.

Wang N, Anderson RE. Transport of 22:6n-3 in the plasma and uptake into retinal pigment epithelium and retina. Exp Eye Res 1993, 57:225-233.

Warshaw JB, Kimura RE. Cellular energy metabolism during fetal development. V.Fatty acid synthesis by the developing heart. Dev Biol 1973, 33:224-228.

Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barclay LRC, Locke SJ. The relative contributions

of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total radical-trapping antioxidant of human blood plasma. Biochim Biophys Acta 1987, 924:408-419.

Werkman SH, Carlson SE. Preterm infants fed formula supplemented with marine oil DHA compared with controls fed only linolenic acid have a shorter look duration. INFORM 1995, 6:530.

Wetzel MG, Li J, Alvarez RA, Anderson RE, O'Brien PJ. Metabolism of linolenic acid and docosahexaenoic acid in rat retinas and rod outer segments. Exp Eye Res 1991, 53:437-446.

Widdowson EM, Dauncey MJ, Gairdner DMT, Jonxis JHP, Pelikan-Filipková M. Body fat of British and Dutch infants. Br Med J 1975, 1:653-655.

Yamamoto N, Saitoh M, Moriuchi A, Nomura M, Okuyama H. Effect of dietary linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. J Lipid Res 1987, 28:144-151.

Yeh YY, Winters BL, Yeh SM. Enrichment of (n-3) fatty acids of suckling rats by maternal dietary menhaden oil. J Nutr 1990, 120:436-443.

Yeh YY, Gehman MF, Yeh SM. Maternal dietary fish oil enriches docosahexaenoate levels in brain subcellular fractions of offspring. J Neurosci Res 1993, 35:218-226.

Yonebuko A, Kanno T, Takahashi K, Konayagi N, Nozaki Y, Yamamoto Y. Effects of dietary fish oil during the fetal and postnatal periods on the learning ability of postnatal rats. Biosci Biotech Biochem 1994a, 58(5):799-801.

Yonebuko A, Kanno T, Takahashi K, Konayagi N, Nozaki Y, Yamamoto Y. Effects of dietary fish oil on polyunsaturated fatty acid desaturation in fetal and postnatal rats. Biosci Biotech Biochem 1994b, 58(5):802-806.

Zimmerman T, Winkler L, Moller U, Schubert H, Goetza E. Synthesis of arachidonic acid

in human placenta in vitro. Biol Neonate 1979, 35:209-212.

Zolliner N, Eberhagen D. Untersuchung und bestimmung der lipoide im blut. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York. 1965, 261-393.

Zoppi G, Andreotti G, Pajano-Ferrara F, Njai DM, Gaburro D. Exocrine pancreas function in premature and full term neonates. Pediatr Res 1972, 6:880-886.