

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Departamento de Pediatría.**



**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN MATERNA CON DHA  
DURANTE LA GESTACIÓN Y LACTANCIA SOBRE EL  
DESARROLLO COGNITIVO/MOTOR Y VISUAL DEL RECIÉN  
NACIDO EN SU PRIMER AÑO DE VIDA**

**JOSE ANTONIO HURTADO SUAZO**

**TESIS DOCTORAL**

**Granada, 2015**

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: Jose Antonio Hurtado Suazo  
ISBN: 978-84-9125-704-2  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/43410>



El doctorando José Antonio Hurtado Suazo y los directores de la tesis José Maldonado Lozano y Julio José Ochoa Herrera

Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, a 9 de noviembre de 2015

Director/es de la Tesis

Doctorando

Fdo.: José Maldonado Lozano

Fdo

Fdo.: Julio José Ochoa Herrera



---

## **1. INTRODUCCIÓN**

---









## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga.

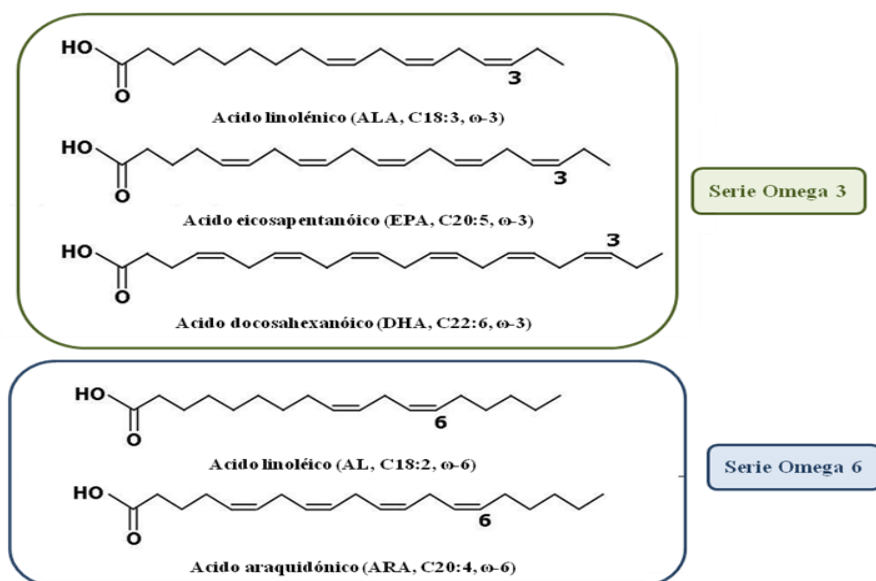
#### 1.1.1. Generalidades.

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), también conocidos con las siglas en inglés LC-PUFAs, son ácidos grasos constituidos por al menos 18 a 20 o más carbonos.

Se clasifican en dos familias principales dependiendo de la posición de su primer doble enlace (1), la serie omega-3 y la serie omega-6. Los ácidos grasos de la serie omega-3 muestran su primer doble enlace entre los carbonos 3 y 4 y su precursor es el ácido alfa-linolénico (ALA). Los ácidos grasos de la serie omega-6 muestran su primer doble enlace entre los carbonos 6 y 7, siendo su precursor el ácido linoleico (LA).

En función del número de átomos de carbono podemos distinguir, dentro de la serie omega-3, el ácido alfa-linolénico (ALA) (18:3  $\Delta$ 9, 12,15), ácido docosahexaenoico (DHA) (22:6  $\Delta$ 4, 7, 10, 13, 16, 19), ácido eicosapentaenoico (EPA) (20:5  $\Delta$ 5, 8, 11, 14, 17), y ácido docosapentaenoico (DPA) (22:5  $\Delta$ 7, 10, 13, 16, 19). Entre el grupo de ácidos grasos omega-6, significar el ácido linoleico (LA) (18:2  $\Delta$ 9, 12) y el ácido araquidónico (ARA) (20:4  $\Delta$ 5, 8, 11, 14).

En la **Figura 1** se aprecia la fórmula estructural de las sustancias mencionadas (1).



**Figura 1. Estructura de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.**

### 1.1.2. Síntesis de Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga.

Mientras que los ácidos grasos de la serie omega 7 y omega 9 , cuyos precursores son el ácido palmitoleico y el ácido oleico respectivamente, se consideran endógenos (al poderse sintetizar sus precursores “de novo” a partir del malonil-COA), los ácidos linoleico y alfa-linolénico son ácidos grasos esenciales, y han de ser suministrados en la dieta (2,3).

Respecto al resto de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, existe capacidad de sintetizarlos en humanos a partir de sus precursores, mediante procesos alternativos de desaturación-elongación.

El ácido linoleico puede ser transformado en los tejidos animales en un grupo de AGPI en los que la disposición del último doble enlace es siempre omega-6; tras una serie de reacciones da lugar al ARA, que es precursor de las prostaglandinas de la serie 2, y se encuentra en altas proporciones en los fosfolípidos de la membrana.

La serie omega-3 deriva del ALA(4); a dicha serie pertenecen los ácidos EPA, precursor de las prostaglandinas de la serie 3, y el DHA, el cual se encuentra en

concentraciones relativamente altas en los tejidos nerviosos y parece desempeñar un papel importante en el desarrollo y función del cerebro y la retina. Sin embargo, esta conversión a DHA, EPA y ARA en el organismo es escasa (5); es bien sabido que el modo más eficiente para el ser humano de disponer de una adecuada cantidad de AGPI-CL es la ingesta a partir de fuentes exógenas. Asimismo, se ha comprobado cómo la capacidad de modificar el LA y el ALA para obtener ARA, DHA y EPA varía entre sexos, siendo más eficiente en mujeres (6). La gestación favorece un incremento en la capacidad de desaturación, mientras que en recién nacidos y en los primeros meses de vida la tasa de conversión es baja debido a una menor actividad enzimática (6).

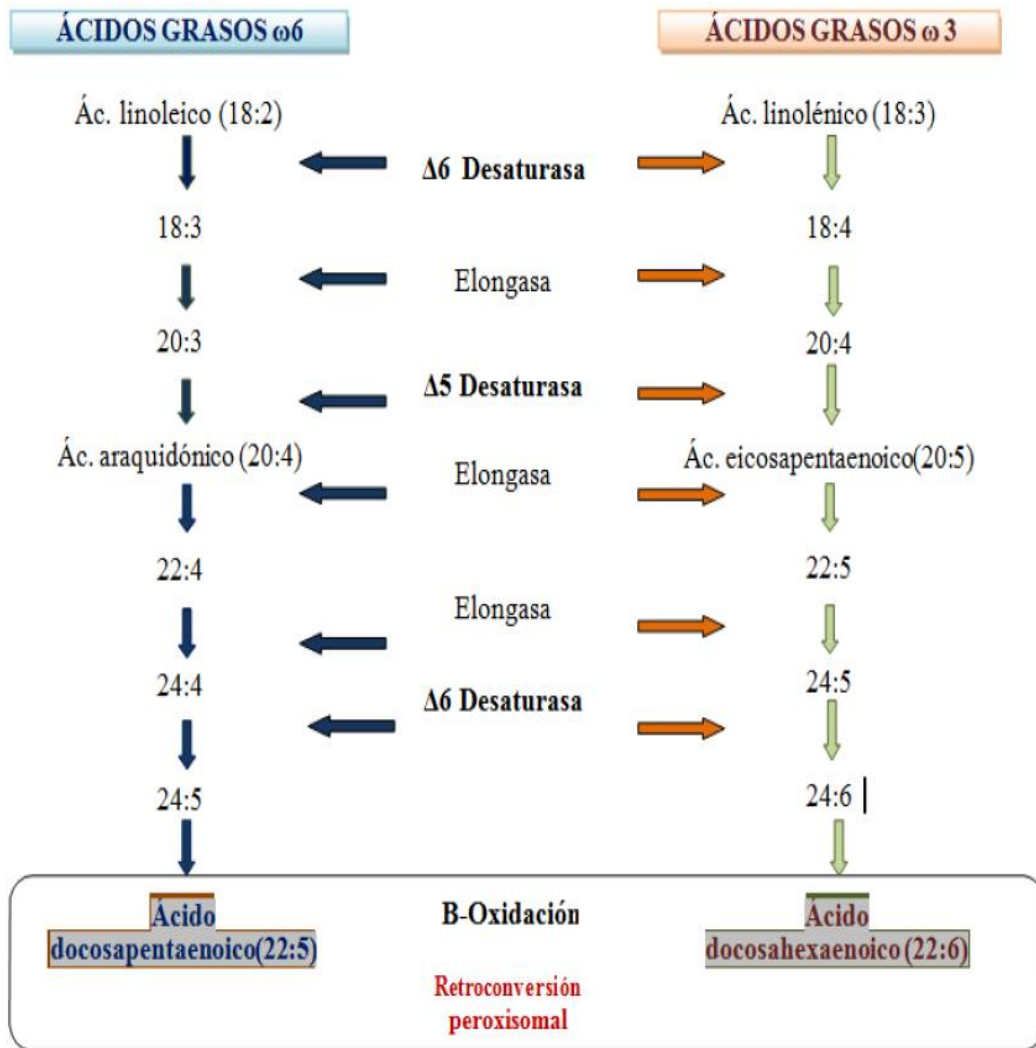
El proceso bioquímico para la síntesis endógena de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga es común. Tanto para la serie omega-3 como la omega-6, la vía de elongación, desaturación y retroconversión peroxisomal es compartida (7). Dos enzimas juegan un papel importante en los procesos de desaturación, la  $\Delta$ -5 y la  $\Delta$ -6 desaturasa. En concreto, la  $\Delta$ -6 desaturasa inicia el proceso, introduciendo un doble enlace entre los carbonos 6 y 7 del LA y ALA. De este modo ambos precursores compiten por esta enzima.

A pesar de ello la afinidad de la  $\Delta$ -6 desaturasa por el ALA es mucho mayor que por el LA (6). Esto puede tener trascendencia en caso de aportes desequilibrados de ambos precursores. Una ingesta elevada de alimentos que contengan un porcentaje alto de ALA puede condicionar una síntesis disminuida de los derivados del LA. En el caso contrario, un aporte elevado de LA respecto al de ALA influirá en que la conversión de ALA hacia sus derivados estará limitada.

En la dieta habitual del mundo occidental, es este último el escenario más habitual. La dieta suele contener de diez a veinte veces más ácidos grasos omega-6 que omega-3 (7, 8). A nivel de los propios tejidos y órganos hay que tener en cuenta asimismo que el predominio habitual es de ácidos grasos de la serie omega-6, excepto en el cerebro y la retina, que son tejidos ricos en omega-3 (7). Las interacciones entre las distintas enzimas, así como la competencia entre las mismas provocan que una ingesta elevada de

EPA y DHA en la dieta, condicionen un descenso de la concentración de ácido araquidónico y un aumento de la de EPA y DHA a nivel tisular (8). Del mismo modo, dietas con suplementos específicos de DHA podrían generar un aumento de EPA, justificado bien por la retroconversión de DHA a EPA o por la activación de la vía del ALA (9).

La **Figura 2** resume las principales etapas metabólicas de la biosíntesis de ácidos grasos omega-3 y omega- 6, y el efecto de competencia entre sus precursores (10).



**Figura 2. Etapas metabólicas de la biosíntesis de AGPI-CL omega-6 y omega-3.**

### **1.1.3. Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga y dieta. Ingesta recomendada.**

Los lípidos de la dieta juegan un papel muy importante en el estado de salud del hombre; aportan una fuente irremplazable de energía, suministran ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles y son la principal fuente de las sustancias aromáticas de los alimentos, contribuyendo decisivamente a las propiedades organolépticas de los mismos.

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga se encuentran fundamentalmente en el pescado graso y en los aceites de semillas oleaginosas.

Distintos aceites vegetales como el de soja, maíz, cártamo o girasol son ricos en ácido linoleico. El ácido alfa-linolénico se encuentra en numerosos vegetales, como la canola, las semillas de calabaza, la linaza o las nueces.

Las fuentes alimentarias de EPA y DHA se encuentran principalmente en los pescados azules y de agua fría (sardinas, salmón, caballas, arenques) (6,11).

Respecto al consumo de pescado azul, en la actualidad debemos tener en cuenta diversos factores referidos a los riesgos potenciales de su ingesta. Es bien conocida la posible presencia de ciertos contaminantes en cantidades superiores a las toleradas como el dicloro difenil tricloroetano (DDT), los bifenilos policlorados (BPCs), los polibromodifenil éteres (PBDEs) (12) y también se ha de tener en cuenta el riesgo asociado a la posible ingesta de metales pesados (plomo, cromo, mercurio, cadmio, arsénico). De todos modos, la mayoría de los estudios publicados al respecto concluyen que son mayores los beneficios obtenidos del consumo de pescado que los perjuicios (13,14,15). Se propone como factor de confusión el tipo de pescado consumido por la población incluida en los trabajos. Las especies más depredadoras y longevas suelen contener en su carne la mayor concentración de mercurio (16).

Parece comprobado que estos riesgos parecen más asociados al consumo de pescado en sí, puesto que los metales pesados se unen selectivamente a la proteína de la carne de pescado, en lugar de acumularse en el aceite. En este sentido, los suplementos de DHA y EPA en forma de aceite de pescado podrían considerarse seguros.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que la cantidad de contaminantes del pescado y otras fuentes dietéticas no exceda de una cantidad mensual denominada PTMI (siglas en inglés de Ingesta Provisional Tolerable de Exposición Mensual), que se estima en 70 µg/kg en mujeres embarazadas (17). Respecto al mercurio, las cantidades máximas semanales tolerables están en 1,3 µg/kg de peso corporal de metilmercurio y en 4 µg/kg (18) de mercurio inorgánico (19). Estos valores suponen una ingesta en torno a 9,1 y 28 µg de metilmercurio y mercurio inorgánico para una persona de peso medio por semana. Los límites máximos de mercurio en alimentos vigentes actualmente son (20):

-1,00 mg/kg: rape, perro del norte, bonito, anguila, reloj, cabezudo, fletán, rosada del Cabo, marlín, gallo, salmonete, rosada chilena, lucio, tasarte, capellán, pailona, raya, gallineta nórdica, pez vela, pez cinto, besugo o aligote, tiburón, escolar, esturión, pez espada y atún.

-0,50 mg/kg: los demás pescados y productos de la pesca.

-0,10 mg/kg: complementos alimenticios.

Estas cantidades han de ser especialmente tenidas en cuenta en la situación de mujeres gestantes y en el periodo de lactancia. En este sentido, la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) (21) recomienda a las mujeres embarazadas, en el periodo de lactancia y a niños menores de tres años, evitar el consumo de las especies de pescado con contenidos de mercurio más altos como pez espada, tiburón, atún rojo y lucio. Para niños de 3 a 12 años, la propuesta es limitar el consumo de estos productos a 50 g a la semana, o 100 g cada dos semanas.

Junto a los riesgos de toxicidad ya mencionados, otro de los problemas que se pueden presentar para conseguir un adecuado aporte de ácidos grasos omega-3 con la ingesta de pescado es el coste del mismo, teniendo en cuenta además que se precisan cantidades elevadas de producto para conseguir aportes de DHA y EPA adecuados a las recomendaciones.

No debemos olvidar que la biodisponibilidad de los ácidos grasos omega-3 varía según el tipo de fuente que se consuma, ya que no todos los aceites de pescado se procesan del mismo modo por el organismo. Los ácidos grasos omega-3 presentes en los alimentos y suplementos dietéticos se pueden encontrar en forma de triacilgliceroles, como ésteres etílicos, como ácidos grasos o unidos a fosfolípidos. La forma más favorable para incorporar la mayor cantidad de EPA y DHA a las membranas y tejidos celulares es la de fosfolípidos. Sin embargo, en los nutrientes de la dieta, la mayor parte de estos ácidos grasos se hallan en forma de triacilgliceroles, lo cual puede disminuir su biodisponibilidad (22).

La dieta habitual en los países occidentales se caracteriza por el consumo de una cantidad considerablemente mayor de ácidos grasos omega-6 que de omega-3. La Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición ha evaluado en nuestro país la ingesta media de los distintos principios inmediatos mediante encuestas nutricionales poblacionales. Los hallazgos de las mismas revelan que la proporción de ácidos grasos en la dieta media es satisfactoria, lo que se atribuye al alto consumo de aceite de oliva por la población española. Los datos de este estudio (23) revelan que más del 40% de la energía aportada por la grasa total ingerida se debe a ácidos grasos monoinsaturados, entre el 26-30% a ácidos grasos saturados y entre el 13 y el 15% a ácidos grasos poliinsaturados. De un punto de vista global, la ingesta observada de ácidos grasos poliinsaturados oscila entre 12 y 17 gramos al día, algo inferior en mujeres. Los grupos de alimentos que contribuyen en un porcentaje mayor a la ingesta diaria de ácidos grasos poliinsaturados son las grasas y aceites (22%), los productos cárnicos y derivados (19%), las legumbres, semillas, frutos secos y derivados (15%), los pescados (14%) y los huevos (11%) (23). Existe una clara descompensación en relación



a las fuentes alimentarias que aportan los distintos ácidos grasos, y en general la cantidad procedente del pescado es inferior a la de otras fuentes.

En otros estudios poblacionales promovidos por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (9,24) se aprecia cómo la ingesta media de ácidos grasos de cadena larga omega-3 en adultos suele ser en general inferior a 1200 mg/día en la población europea. En los países escandinavos, tradicionalmente grandes consumidores de pescado, la ingesta diaria de AGPI-CL omega-3 procedente de la dieta puede suponer una cantidad tan alta como 2,7g/día de promedio (25).

A la vista de la condición referida, en cuanto al estado deficitario de aporte de ácidos grasos omega-3 en los países del sur de Europa, actualmente encontramos numerosos alimentos enriquecidos con aceite de pescado o con omega-3, sobre todo EPA y DHA (zumos, productos lácteos, pan, margarinas, huevos...).

No disponemos en la actualidad de una clara recomendación en cuanto a la ingesta diaria de ácidos grasos omega-3. Analizando las propuestas de diversos organismos nacionales e internacionales, encontramos recomendaciones con rangos muy amplios tanto para EPA como DHA. Por ejemplo para DHA se proponen entre 200-600 mg diarios para adultos y entre 40-250 mg al día para lactantes mayores de 6 meses, niños y adolescentes (9). Estas recomendaciones se basan en la relación observada entre la ingesta de ácidos grasos omega-3 y el menor riesgo de enfermedades cardiovasculares (26).

Desde un punto de vista práctico, el Comité Nutricional de la Asociación Americana del Corazón propone un consumo de pescado de al menos 2 veces por semana, lo que ayuda a prevenir y reducir el riesgo de padecer enfermedades cardíacas. Por su parte, la Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos recomienda una ingesta de 250 mg al día de AGPI-CL omega-3, mientras que las autoridades sanitarias en Australia proponen una cantidad de 610 mg de EPA y 430 mg de DHA al día para reducir el riesgo cardiovascular (1). Un adecuado efecto en el ámbito de minimizar el estado

proinflamatorio se consigue con dosis de 500 a 1000 mg de ácidos grasos omega-3 al día (24).

Existen asimismo una serie de recomendaciones específicas en función de los grupos poblacionales. Para lactantes de 6 a 24 meses de edad se proponen aportes de entre 70 y 100 mg al día de DHA basándose en la acumulación acelerada que tiene lugar en el sistema nervioso central en esta edad, y sus efectos sobre el desarrollo visual (9). Las fórmulas infantiles deben contener al menos un 0,2% del total de ácidos grasos como DHA y un 0,35% como ARA (1). En el caso de las mujeres embarazadas y durante el periodo de lactancia también se recomienda una ingesta adicional de DHA de 100-200 mg al día para compensar las pérdidas oxidativas del DHA pero sobre todo para dar respuesta a las necesidades elevadas de esta sustancia que tiene el feto (9).

En la siguiente tabla se comparan las recomendaciones de ingesta de DHA para lactantes, comparando la propuesta de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria y la de la Organización Mundial de la Salud.

**Tabla 1. Resumen de las recomendaciones de AGPI-CL en lactantes.**

AUTORIDAD	RECOMENDACIÓN
<b>Expertos FAO/OMS en grasas y ácidos grasos (2010) (22)</b>	<p><b>0-6 m:</b> DHA 0,2-0,36% y ARA 0,4-0,6% del total de ácidos grasos.</p> <p><b>6-24 m:</b> 10-12 mg DHA/kg de peso corporal total.</p>
<b>EFSA (Autoridad Europea de Alimentos y Seguridad Alimentaria) (2012)</b>	<p><b>0-6 m:</b> DHA 0,32% de los ácidos grasos para el desarrollo visual.</p> <p><b>7-24 m:</b> 100 mg DHA/d.</p>

Todas las consideraciones previas podrían llevar a la conclusión de que los suplementos en dosis elevadas de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 son claramente beneficiosos. Sin embargo, disponemos de escasos datos sobre los efectos adversos a largo plazo que esta estrategia pudiera conllevar. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria se ha pronunciado al respecto y considera que la ingesta de suplementos dietéticos de DHA de hasta 1 gramo al día no supone riesgo para la población en general. Del mismo modo se sugiere que ingestas de hasta 600mg/día de DHA no causan efectos adversos en niños y se comunica que incluso en caso de ingestas superiores (1400-1700mg/día) observadas en algunas poblaciones infantiles, no se han apreciado efectos adversos.

En un metanálisis reciente (27) de estudios de suplementos con DHA durante la gestación, se concluye que ingestas de entre 1 gramo y hasta 2,7 gramos al día de AGPI-CL omega-3 no producen efectos desfavorables. A pesar de ello, las recomendaciones diarias de DHA para los adultos y niños europeos se encuentran por debajo de esta cifra (9).

#### **1.1.4. Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga Omega-3. Funciones principales.**

##### **1.1.4.1. Estructura y función de las membranas celulares.**

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 son componentes estructurales de las membranas celulares encontrándose bien como fosfolípidos de membrana o como moléculas libres (28). La incorporación de ácidos grasos poliinsaturados libres a los fosfolípidos de membrana puede influir en las propiedades físicas de las mismas. Permiten el correcto acoplamiento de los fosfolípidos de membrana reduciendo las tensiones intermoleculares (29). De este modo facilitan el que se mantengan algunas de las propiedades que garantizan el funcionamiento óptimo de las membranas: la fluidez, la permeabilidad, la actividad enzimática y de receptores y la transducción de señales (7). Los cambios en la permeabilidad parecen depender directamente del grado de

desaturación de los ácidos grasos (28). Una y otra vez se encuentra el papel fundamental que en ello juegan el ácido eicosapentaenoico y el docosahexaenoico. Es sabido que el DHA tiene mayor efecto que otros ácidos grasos como el ácido alfa-linolénico respecto a la permeabilidad de las membranas (30,31).

Otro aspecto a destacar es el impacto que juegan en la regulación de la expresión génica. La presencia en la membrana celular de EPA y DHA les permite influir sobre el metabolismo celular, la transducción de señales y la expresión de genes (9). Por ejemplo en la transducción de señales se ha visto que el EPA y el DHA, aunque este último con más potencia, son capaces de disminuir la fosforilación de JAK1, JAK3, STAT5, ERK1/2 y Akt inducida por la IL-2, disminuyendo la estimulación de esta citoquina sobre la proliferación de linfocitos (32). Asimismo, se propone que presenta una relación con la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B involucrado en la producción de citoquinas por macrófagos tras estimulación con lipopolisacáridos, objetivándose una disminución de la expresión de mRNA de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, siendo el efecto del DHA más potente que el de EPA (28).

Respecto a los efectos moduladores que DHA y EPA tienen sobre la inmunidad, se propone que éstos ocurren por cambios en la expresión génica (28). La expresión de genes relacionados con la transducción de señales, la supervivencia celular, la apoptosis y la producción de citoquinas se ve alterada por el EPA y DHA. El DHA estimula la expresión de genes relacionados con la defensa y reparación, mientras que el EPA se ha visto que está relacionado con la expresión de otros genes (33). Además también afectan a la expresión génica de factores de transcripción, adhesión celular, citoesqueleto y receptores hormonales (33).

#### **1.1.4.2. Participación en mecanismos antiinflamatorios y regulación de eicosanoides.**

Los ácidos grasos omega-3 también regulan la producción de eicosanoides derivados del ácido araquidónico (ARA). Este grupo de los eicosanoides está integrado por prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos. Tienen un importante

papel en el control de distintas funciones del organismo como la presión arterial, función renal, coagulación sanguínea y reacciones inflamatorias e inmunológicas, entre otras (34).

También puede haber síntesis de eicosanoides a partir del EPA. La prostaglandina PGE<sub>3</sub>, la prostaciclina PGI<sub>3</sub>, el tromboxano TXA<sub>3</sub> y el leucotrieno LTB<sub>5</sub> son algunas de las sustancias cuyo precursor es el EPA. Dado que las enzimas que intervienen en su producción, ciclooxigenasas y lipoxigenasas, carecen de especificidad, pudiera existir competencia entre distintos sustratos para formar eicosanoides.

El EPA compite con el ARA para estimular la producción de prostaglandinas de la serie 3 y leucotrienos de la serie 5 que tienen una menor acción inflamatoria que los eicosanoides derivados del ARA. La suplementación con DHA puede inducir cambios en el balance de los eicosanoides sintetizados a partir de los ácidos grasos omega-3 y omega-6. De este modo, la ingesta de algún tipo de ácidos grasos pudiera influir en una acción antiinflamatoria en función del tipo de eicosanoides más sintetizados (6,35,36, 37,38,39).

La suplementación con aceite de pescado ha demostrado una reducción de los eicosanoides de la serie 2 (PGE<sub>2</sub>, tromboxano B<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>, ácido 5-hidroxi-eicosatetraenoico y LTE<sub>4</sub>) por células inflamatorias, debido a una reducción del sustrato disponible para la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico.

Los efectos sobre la inflamación de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga también pueden realizarse por otros mecanismos distintos a los eicosanoides. Algunas acciones específicas pueden ser la acción sobre receptores, sobre las vías de señalización intracelular y la actividad de factores de transcripción (33). También se ha demostrado que los ácidos grasos omega-3 pueden reducir la concentración de proteína C reactiva (PCR), citoquinas (34), quimioquinas y otros biomarcadores inflamatorios. Además el EPA y el DHA son productores de los mediadores lipídicos denominados resolvinas y protectinas que tienen efecto antiinflamatorio e inmunomodulador (40).

#### **1.1.4.3. Estrés oxidativo.**

Los ácidos grasos omega-3 se consideran muy efectivos en la prevención de distintas enfermedades gracias a sus efectos antioxidantes (41). A pesar de ello, surgen dudas respecto al papel que pueda desempeñar el DHA, puesto que al tratarse de un ácido graso muy insaturado, es muy susceptible a la peroxidación lipídica, consistente en la oxigenación de ácidos grasos poliinsaturados generándose peróxidos de ácidos grasos (42). Esto tiene trascendencia respecto a la elaboración de suplementos con ácidos grasos omega-3, puesto que hay que garantizar su seguridad, dados los riesgos que supone la generación de radicales libres. Algunos estudios han podido comprobar cómo no han aparecido cambios entre las concentraciones iniciales de lípidos peroxidados ni en la actividad enzimática antioxidante tras la administración de suplementos de DHA. En estudios randomizados en los que se ha administrado hasta 1g/d de DHA o 2'7 g/d de AGPI-CL omega-3 no se han observado efectos adversos, incluso en embarazadas (43).

Durante el embarazo se produce un incremento de la actividad metabólica y un aumento en la producción de radicales libres. En este sentido las gestantes sufren una mayor agresión por radicales libres. El parto es un momento en el que también se produce un mayor daño oxidativo tanto en la madre como en el recién nacido, viéndose especialmente afectados aquellos niños que nacen de modo prematuro (44,45). Algunos estudios en animales han mostrado incrementos de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), en cerebros de ratas tras ser suplementadas con DHA durante el desarrollo postnatal (46). En un estudio llevado a cabo en embarazadas, se ha sugerido que la ingesta de aceite de pescado durante el embarazo podría actuar como antioxidante en esta etapa, aunque los resultados no son del todo concluyentes (47).

#### **1.1.4.4. Prevención y otros beneficios en diversas patologías.**

Son bien conocidos los efectos beneficiosos que los ácidos grasos omega-3 ejercen sobre diversas enfermedades cardiovasculares (48,49). Distintos ensayos han demostrado su potencial para disminuir el riesgo de mortalidad cardiovascular (50). En una reciente revisión se ha observado que los ácidos grasos libres omega-3 son eficaces

en la reducción de los niveles de triglicéridos y otros lípidos en pacientes con hipertrigliceridemia y pacientes con riesgo cardiovascular elevado tratados con estatinas (51,52). Por el contrario, otros trabajos en los que se ha evaluado la administración de ácidos grasos omega-3 y su impacto sobre el riesgo cardiovascular han concluido que los suplementos con EPA y DHA disminuyen los niveles de triglicéridos pero pueden aumentar los de colesterol LDL. Este efecto no se aprecia cuando el EPA se administraba en solitario (53, 54,55).

Además del impacto bien establecido sobre los niveles de triglicéridos, los ácidos grasos omega-3 también disminuyen la producción de agentes quimiotácticos, factores de crecimiento, moléculas de adhesión, eicosanoides inflamatorios y citoquinas inflamatorias. Por otra parte, pueden incrementar la producción de óxido nítrico, mejorando la relajación endotelial y la distensibilidad vascular, disminuyendo el riesgo de trombosis y arritmias cardíacas (56,57). Aunque aún no está del todo claro el mecanismo por el cual estos ácidos grasos ejercen su efecto protector, se han propuesto mecanismos antiinflamatorios que se producen en la pared de los vasos sanguíneos (57); de alguna manera todo ello puede influir beneficiosamente sobre la enfermedad vascular periférica (56).

Sobre procesos inmunológicos e inflamatorios también se han apreciado ventajas al emplear suplementos con ácidos grasos omega-3. El Lupus Eritematoso (40), el Asma, la Fibrosis Quística (58), la Enfermedad Pulmonar Obstructiva (1), la Artritis Reumatoide (38), la Esclerosis Múltiple (1,59, 60, 61), la Colitis Ulcerosa (62) y Enfermedad de Crohn (34) y la Diabetes Mellitus tipo 2 (63) son algunos procesos que podrían mejorar con esta terapia.

A nivel oncológico diversos ensayos han mostrado asimismo ventajas en la suplementación con aceite de pescado. Se ha apreciado reducción de la incidencia del cáncer de mama metastásico (59). En pacientes con cáncer colo-rectal (64) también se han puesto de manifiesto sus beneficios, con una reducción de marcadores inflamatorios, como la IL-6, en pacientes que tomaron suplementos de ácidos grasos

omega-3. En leucemia, cáncer de pulmón, cáncer cervical, neuroblastoma, linfoma, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de ovario y glioblastoma (65) también se han empleado los ácidos grasos omega-3. Estos efectos beneficiosos pueden deberse a su actividad antiinflamatoria (66), anti-proliferativa, pro-apoptótica, anti-metastásica (67) y sobre todo a su potencial en cuanto a la regulación epigenética (68). En una reciente revisión sistemática en pacientes oncológicos (cáncer de pulmón, mama, colo-rectal y gastrointestinal) tratados con quimioterapia y/o radioterapia se comprobó cómo la suplementación con ácidos grasos omega-3 puede aportar beneficios en cuanto al mantenimiento del peso corporal, disminución de la neuropatía periférica, mejorando la calidad de vida sobre todo por la preservación de la condición física. Aún así se precisa todavía obtener mucha más información para establecer las recomendaciones terapéuticas del EPA y DHA en los procesos oncológicos (65).

#### **1.1.5. Efecto de la grasa de la dieta sobre el embarazo y la lactancia.**

Los ácidos grasos esenciales y los derivados del ácido linoleico y ácido alfa-linolénico, juegan un papel importante en la gestación. Se han asociado a mayor prolongación de la gestación, retraso del parto espontáneo y a una reducción de la recurrencia de parto prematuro tanto en estudios animales y humanos, mejorando los resultados neonatales (27, 69). También es conocido que los niveles de DHA en el plasma materno durante la gestación influyen en el desarrollo de las funciones cognitivas y neurológicas del neonato. En una reciente revisión sistemática (27) de estudios de suplementación con DHA durante la gestación, se recoge que los tests de evaluación de desarrollo neurológico en los hijos de madres que tomaron suplementos con DHA durante la gestación presentan mayor puntuación (70,71) en comparación con los del grupo control. También se ha demostrado una relación positiva entre los niveles de DHA en plasma de cordón umbilical y el desarrollo de habilidades cognitivas de los niños.

A pesar de estos resultados sigue existiendo mucha controversia al respecto. Hay estudios que no comparten estos resultados (72,73) y otros no demuestran que esos beneficios se mantengan a largo plazo, no encontrando diferencias significativas entre grupos suplementado y control en la primera infancia (74,75).



Durante el embarazo hay una alta demanda tanto de ácidos grasos omega-6 como de omega-3 porque el feto los obtiene preferentemente de la transferencia placentaria (76), lo que condiciona que el almacén de estos ácidos grasos en el feto dependa de la ingesta materna de los mismos.

Se ha observado cómo la suplementación de la dieta de gestantes con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 se ha asociado a un aumento de las concentraciones de DHA en plasma, placenta y sangre de cordón umbilical (77).

A pesar de los beneficios demostrados en el desarrollo neurológico del feto y del neonato, la prolongación de la gestación, el peso al nacimiento y los beneficios sobre el proceso inflamatorio, la ingesta recomendada de AGPI-CL en el embarazo no ha sido establecida con unanimidad (70). Según las directivas de la EFSA, se recomienda de 125 a 500 mg al día de DHA durante el embarazo para aumentar sus niveles y cubrir las necesidades ligadas a esta etapa. Pero para que la embarazada pueda suplir esas altas demandas es necesario el consumo de una gran variedad de fuentes dietéticas de ácidos grasos omega-3. De ahí que se recalque la importancia de una intervención dietética adecuada que asegure una gestación con resultados beneficiosos para la madre e hijo.

La lactancia es otra etapa en la que la ingesta de DHA resulta beneficiosa para la madre y para el niño. Aunque el DHA también está presente en la leche materna, no ocurre igual en todas las fórmulas infantiles. La leche materna contiene ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, omega-6 y omega-3, que constituyen el 2% del total de ácidos grasos; asimismo, contiene componentes que juegan un papel inmunológico específico, como son citoquinas, factores de crecimiento, leucocitos, inmunoglobulinas y proteínas como la lactoferrina y lisozima. La presencia de citoquinas en la leche materna contribuye al desarrollo del sistema inmune neonatal y confiere protección al niño que en estas etapas carece de una red de citoquinas maduras (78). Aún en concentraciones femtomolares, las citoquinas son capaces de regular la acción y las propiedades de las células del sistema inmune. Un amplio rango de citoquinas, tanto proinflamatorias como antiinflamatorias, ha sido detectado en leche materna en diversos estadios del periodo de

la lactancia. Algunas de ellas son la interleuquina (IL) 1- $\beta$ , la IL-6, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) (79).

La suplementación con DHA en las madres durante el período de lactancia se ha mostrado eficaz para incrementar las cantidades de DHA excretadas en la leche humana (80). Aleatorizaron un grupo de noventa mujeres para recibir placebo o suplementos de 200 o 400 mg de DHA durante un período de semanas de su lactancia y comprobaron cómo la cantidad de DHA en la leche materna se incrementaba significativamente. En el plasma de los hijos de estas mujeres apreciaron una disminución de la relación omega-6/omega-3 también de modo significativo.

Los ácidos grasos presentes en la leche materna también parecen jugar un papel importante en la maduración y función del sistema inmune. La lactancia materna exclusiva durante los primeros meses de vida no sólo ha demostrado protección frente al desarrollo de varios tipos de infecciones (respiratorias, gastrointestinales, urinarias, otitis media y enterocolitis necrotizante) (81,82) sino también protección frente al desarrollo de enfermedades alérgicas. Por esto y otros motivos, la leche materna es el alimento ideal para el recién nacido (83) ya que aporta los nutrientes necesarios para un correcto desarrollo y crecimiento del mismo. Cuando no pueden ser alimentados con leche materna, los sustitutos de ésta pasan a ser esenciales y es importante conocer su composición

La membrana de eritrocitos de los niños alimentados con lactancia materna tienen un porcentaje de ácidos grasos omega-3 significativamente mayor, especialmente de DHA, que aquellos niños que son alimentados con fórmulas no suplementadas (84). Así, la concentración de DHA en plasma, en eritrocitos y sistema nervioso de niños amamantados es superior que en aquellos alimentados con fórmula. Sin embargo, tienen niveles similares de ácido araquidónico (ARA) (85). El contenido de ácidos grasos de la leche materna está influenciado por numerosos factores, pero parece tener mayor peso la cantidad de DHA que ingiere la madre (86,87). Se ha demostrado que la composición de ácidos grasos poliinsaturados de la leche materna está parcialmente determinada por el

contenido de AGPI-CL de la dieta. Existe una correlación entre los niveles de DHA en leche materna y los niveles de éste en sangre. En diversos estudios (86,88) se ha visto que los grupos de madres suplementadas con DHA tenían mayores niveles de DHA en plasma y en leche materna. De forma similar, aunque más débilmente también encontraron una relación entre la cantidad de DHA presente en la leche materna y en el plasma del niño. Otros estudios de suplementación también encuentran una relación positiva entre la suplementación con aceite de pescado y la reducción del ratio omega-6/omega-3 en plasma de madre y sangre de cordón umbilical (89).

El principal problema se plantea por los bajos niveles de consumo de DHA en la dieta occidental, donde hay un desequilibrio en la ingesta de omega-6 y omega-3, a favor de los primeros. Estudios recientes han demostrado que la dieta de mujeres gestantes y en periodo de lactancia de países occidentales, contiene sólo de un 20% a un 60% de las cantidades diarias recomendadas de ácidos grasos omega-3 (85).

En un estudio realizado en población adulta española en el año 2013 (90) se recogía que la ingesta total de ácidos grasos omega-3 era de  $1,8 \pm 0,60$  g/día (ALA:  $1,3 \pm 0,32$ , EPA:  $0,16 \pm 0,14$ , y DHA:  $0,33 \pm 0,21$  g/día) mientras que la de omega-6 era de  $11,0 \pm 2,7$  g/día (LA:  $10,8 \pm 2,7$  g/día). Una alta proporción de participantes no cumplían con la ingesta ideal de ácidos grasos omega-3 (84,7 %), ALA (45,0 %), y EPA+DHA (62,9 %). Las principales fuentes de ALA fueron los aceites, productos lácteos y la carne. Para EPA fue el pescado; para el DHA también el pescado, los huevos y la carne y por último para LA fueron los aceites, la carne y los cereales. Se concluyó que a pesar de una ingesta elevada de alimentos ricos en omega-3 se podía mejorar la ingesta de los mismos.

Ya se ha comentado que los ácidos grasos omega-3 y omega-6 son esenciales y que su síntesis en el ser humano es limitada, por lo que su ingesta con la dieta es fundamental. Un aporte dietético constituido mayoritariamente por ácidos grasos omega-6, como ocurre en nuestra cultura, puede inhibir significativamente la formación endógena de ácidos grasos omega-3, en especial de EPA y DHA, dada la competencia enzimática

entre sus precursores. Esto cobra mayor interés en el feto y recién nacido en desarrollo, especialmente en los recién nacidos prematuros o pequeños para la edad gestacional (91). Debido a la limitada capacidad de síntesis de estos ácidos grasos (92) en el neonato existe una dependencia exclusiva de la transferencia placentaria y de la leche materna, y por lo tanto su administración a través de la dieta de la madre se hace fundamental. Un consumo limitado en la mujer gestante o en etapa de lactancia se puede asociar con un déficit en la disponibilidad de DHA para un desarrollo neurológico e inmunológico óptimo del feto y recién nacido. Por eso, en estas etapas, una intervención nutricional preventiva adquiere especial interés, ya que la grasa que ingiere la madre gestante y lactante va a tener una gran influencia por un lado sobre el desarrollo del feto y por otro sobre la composición lipídica de la leche materna y por tanto sobre la nutrición del recién nacido en sus primeras etapas (93,94).

### **1.1.6 Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga y neurodesarrollo del lactante.**

Es un hecho conocido desde hace décadas que el desarrollo neuronal depende del suministro adecuado de nutrientes y de un modo especialmente importante de ácidos grasos esenciales y de sus derivados poliinsaturados (95).

El DHA es el ácido graso que predomina en la sustancia gris y supone entre un 10-20% de la cantidad de ácidos grasos presentes en el córtex frontal de un adulto (96).

Diversos estudios en roedores y primates han puesto de manifiesto los efectos y mecanismos del DHA a nivel cerebral.

La membrana sináptica es un sitio preferencial de acúmulo del DHA, donde influye tanto en el modelado de la señal sináptica como en la propia sinaptogénesis. El déficit de DHA en la vida intrauterina ocasiona una alteración en la composición de los fosfolípidos de membrana, con una disminución de la cantidad de fosfatidilserina, que modula de modo preferencial la señal intersináptica a través de diversas proteínas como la protein kinasa. La protein kinasa juega un papel importante en la plasticidad del citoesqueleto a través de los filamentos de actina, influye en la motilidad de los conos,

favorece el desarrollo y estabilidad de las espinas dendríticas y también modula la dinámica de liberación y recaptación de neurotransmisores (97).

El DHA también incrementa la expresión de diversos factores neurotróficos como el factor de crecimiento neuronal y el factor de crecimiento derivado del cerebro (98).

Por otra parte, se ha comprobado cómo el DHA y sus metabolitos bioactivos son protectores frente a diversas agresiones a nivel neuronal asociadas a peroxidación lipídica y estrés oxidativo durante el desarrollo fetal de los roedores (99).

El déficit de DHA en el cerebro de rata puede afectar a la liberación de neurotransmisores, y en este escenario se puede encontrar una disminución de la liberación presináptica que afecta a sistemas como el dopaminérgico, serotoninérgico y de la acetilcolina. Del mismo modo puede verse afectado el fenómeno de potenciación a largo plazo, para el que se requiere un adecuado funcionamiento del sistema glutaminérgico, y que puede influir en los procesos de memoria y aprendizaje cognitivo (100).

Otro dato que resulta importante para el funcionamiento fino de los circuitos cerebrales es el “mantenimiento” que el propio sistema ha de hacer eliminando sinapsis aberrantes. Algunos trabajos recientes han sugerido que el déficit de DHA en el cerebro de la rata durante el desarrollo fetal puede incrementar la producción de citoquinas proinflamatorias en el hipocampo lo que condicionaría un fenotipo no fagocítico, con disminución de la eliminación de sinapsis aberrantes y afectando el funcionamiento de la microglía (101).

Otro aspecto a destacar de la maduración de los circuitos corticales está relacionado con el proceso de mielinización axonal. El DHA se acumula en la mielina durante el periodo neonatal de la rata. Respecto a esta cuestión se han realizado diversos estudios que han mostrado resultados no del todo concordantes. En uno de ellos, se administró DHA o EPA intraventricular en ratas de dos días de vida, y cualquiera de los dos incrementó la expresión de genes relacionados con la mielina en diversas regiones cerebrales (102).

Un ensayo de suplementación con aceite de pescado a ratas gestantes, comparó los dos extremos, la suplementación y el déficit. Ambas estrategias condujeron a un enlentecimiento en la conducción de los potenciales evocados auditivos de sus fetos (103). Aunque en otros trabajos se comprobó cómo este efecto desaparecía cuando las ratas recién nacidas llegaban a adultos jóvenes (104).

Se sugiere en base a todo esto, que el DHA debe mantener unos niveles adecuados para que se mantenga la integridad de la sustancia blanca y la mielina en el cerebro de los roedores.

En un ensayo de Auestad y cols. del año 2000 (105), se monitorizó el nivel de ácidos grasos cerebrales en tres generaciones de ratas que recibían dietas deficientes en AGPI omega 3, comparado con el de las ratas control que recibían un adecuado aporte de ácidos grasos en su dieta. En las ratas con dieta baja en AGPI, el contenido de ácidos grasos cerebrales disminuyó progresivamente a un 87 y 83% del control en la segunda y tercera generación respectivamente. Estas ratas tuvieron una capacidad de aprendizaje disminuida y más dificultades para la resolución de problemas que las que recibieron una dieta adecuada. Como conclusión, los autores refieren que el aprendizaje y las habilidades del comportamiento están relacionados con el nivel cerebral de DHA, y éste a su vez está influenciado por el aporte exógeno tanto en el desarrollo intrauterino como a lo largo de los primeros meses de vida. Los ensayos llevados a cabo en primates han arrojado datos muy similares a los encontrados en roedores.

La cantidad de DHA se incrementa de un modo acelerado en el cerebro de los fetos de primate en la época perinatal. Del mismo modo aquellos individuos que nacen prematuramente muestran déficit de DHA a nivel cortical cuando se compara con los término (106).

El déficit de DHA en monos recién nacidos se ha relacionado con déficit de atención visual, polidipsia, déficits en la agudeza visual y anomalías en el electroretinograma (107,108).

Algunos trabajos más recientes señalan que en primates jóvenes que se han desarrollado con aporte limitado de DHA, la conectividad en los circuitos entre distintas zonas corticales a nivel prefrontal está disminuida (109).

En relación al DHA y el desarrollo del sistema nervioso en recién nacidos y lactantes, existen numerosas publicaciones.

El último trimestre de gestación es un periodo de rápido crecimiento a nivel cerebral, en este tiempo duplica su peso. El DHA se acumula rápidamente en este periodo coincidiendo con un periodo de neurogénesis aumentada, alta tasa de diferenciación celular, expansión de la sustancia gris y aumento de las sinapsis. En esta parte de la gestación empiezan a aparecer asimismo las conexiones entre distintas regiones cerebrales como el fascículo uncinado o el fascículo longitudinal superior (110,111)

En el primer año de vida se mantiene un ritmo alto de crecimiento cerebral a la vez que se produce una maduración funcional de las estructuras. El cerebro aumenta de un peso en torno a 350 g al nacimiento hasta unos 900 g al año de vida. El DHA supone aproximadamente el 9% de los ácidos grasos del córtex cerebral (112).

Las consecuencias del déficit de AGPI de las series omega 6 y omega 3 durante el desarrollo del feto y en los primeros meses de vida pueden ser especialmente deletéreas a nivel del sistema nervioso central.

Algunos trabajos han mostrado las consecuencias tardías que puede tener para los niños que nacieron de modo prematuro y no recibieron suplementación de DHA, evidenciado este estatus deficitario de DHA en pruebas de neuroimagen realizadas en la adolescencia. Algunos hallazgos frecuentes son: reducciones significativas en el volumen cortical de la región frontal y temporal, disminución del volumen de la amígdala y el hipocampo, reducción del cuerpo caloso y de la sustancia blanca, así como ventriculomegalia. Todos estos hallazgos se justifican por el déficit de DHA en una época crítica del crecimiento cerebral como es el tercer trimestre de la gestación y los primeros meses de la vida extrauterina (113,114).

Asímismo, se ha podido comprobar que adolescentes y adultos jóvenes que fueron prematuros pueden tener comprometida la integridad de la sustancia blanca.

Del mismo modo se aprecia cómo la conectividad entre las regiones prefrontales puede estar disminuida. Y esto resulta importante, puesto que estos hallazgos se han realizado en prematuros que no tuvieron lesiones cerebrales, valoradas mediante ecografía, que pudiera justificar esta afectación de la sustancia blanca, del tipo hemorragia intraventricular, leucomalacia periventricular, hidrocefalia hemorrágica postobstructiva o porencefalia. No existiendo estas lesiones, se acepta que dichos trastornos en la sustancia blanca pueden estar asociados al déficit de DHA que pudieran tener estos pacientes (115).

La lesión en la sustancia blanca se ha asociado con dificultades en el neurodesarrollo. Es bien sabido que los pacientes prematuros, y más aún los grandes inmaduros con edades gestacionales el nacimiento inferior a 32 semanas, sufren mayor incidencia de déficit de atención e hiperactividad, impulsividad, dificultades en el aprendizaje, trastornos del lenguaje, ansiedad, dificultades motoras y de adaptación social a su entorno. En la época adolescente presentan mayores tasas de trastornos psicóticos. Se sugiere que todos estos trastornos pueden tener una base común en los déficits de maduración cortical que sufren los pacientes prematuros en un entorno de déficit de DHA (116) y también de ácido nervónico (117). En la misma línea varios estudios (118,119) señalan cómo la leche de mujeres que han dado a luz a niños prematuros contiene más cantidad de ácido nervónico que la de madres de niño a término, lo que subraya la importancia del mismo para el desarrollo neurologico.

Todo ello hace pensar que la suplementación de las fórmulas de los pacientes prematuros con DHA, debería tener un importante impacto en la mejora de los resultados de neurodesarrollo.

De hecho algunos trabajos mostraron que la suplementación con DHA de las fórmulas para prematuros mejoró la capacidad de atención de estos niños así como su memoria cognitiva, cuando se compararon con pacientes de las mismas características que



recibieron fórmula no suplementada (120).

El resultado de los diversos trabajos ha sido sin embargo no tan exitoso como se esperaba, y un metanálisis del 2008 mostró resultados poco concluyentes. En esta revisión inicialmente se incluyeron 15 ensayos aleatorizados en los que se valoraba el impacto de la suplementación con DHA de la fórmula infantil administrada a prematuros sanos. Se excluyeron cuatro trabajos por dudas respecto a la metodología y en el seguimiento de los pacientes. La mayoría de los trabajos usaron el Test de Bayley II para la valoración del neurodesarrollo, realizado habitualmente entre los 12 y 18 meses de vida. Más de 800 pacientes fueron incluidos. Las conclusiones de los autores puntualizaban que los trabajos recogidos se habían hecho sobre todo en prematuros sanos y en prematuros cercanos al término. También que las dosis y fuentes de DHA habían sido muy variables. Pese a todo, el resultado del metanálisis no muestra efectos beneficiosos de la suplementación sobre el neurodesarrollo. Tampoco se encontró evidencia de que la suplementación pudiera dificultar el crecimiento (121).

Una de las limitaciones que se ha argumentado a esta revisión, ha sido el hecho de que la mayoría de los ensayos incluidos en la publicación, utilizaban dosis de DHA en torno al 0'3% de las grasas aportadas. Posiblemente estas dosis sean insuficientes para compensar la malabsorción de grasas que suelen sufrir los pacientes prematuros por el déficit de lipasa intestinal, así como para compensar la oxidación del DHA y sobre todo para recuperar la deficiencia de DHA que los recién nacidos prematuros suelen adquirir en las primeras semanas de vida. Otros investigadores han comprobado cómo puede ser necesaria una concentración de DHA del 1% en las fórmulas administradas a prematuros para conseguir un estatus de DHA similar al de los recién nacidos a término. También se ha podido comprobar cómo la suplementación con DHA al 0,34% no ha conseguido mejorar el volumen de sustancia blanca en los pacientes prematuros, comprobado mediante RMN. De alguna manera toda esta información ha llevado a la elaboración de nuevas guías para la administración de suplementos de DHA (122).

En otra revisión sistemática (123), que incluía seis estudios controlados en recién nacidos pretérmino, cuatro no encontraron efecto alguno sobre el índice de desarrollo

mental de Bayley y dos sí lo hicieron, utilizando el test de Fagan. En un estudio llevado a cabo en niños prematuros, alimentados bien con leche materna o fórmulas que contenían exclusivamente ácido linoleico y alfa-linolénico, los niños alimentados con leche materna presentaron un cociente intelectual de 8,3 puntos mayor que los alimentados con fórmula, a la edad de 7,5-8 años (124). En otro estudio posterior, niños prematuros alimentados con una fórmula suplementada con DHA presentaron un mejor índice de desarrollo mental de Bayley a los 12 meses que los controles, los cuales se alimentaron con una fórmula convencional sin suplementar (125). Estos datos evidencian que el DHA por sí solo puede condicionar una mejora del desarrollo mental en etapas muy tempranas de la vida. Otro estudio realizado en niños pretérmino, señala cómo los lactantes alimentados con fórmulas suplementadas con AGPI-CL presentaron mejores resultados en el test de Fagan a la edad de 6 meses, aunque no a los 9 meses. A los 12 meses de edad, no hubo diferencias en el índice de Bayley de desarrollo mental, ni en el de desarrollo del inventario comunicativo de Mc Arthur a los 9 y 14 meses, pero sí en el índice de desarrollo motor (126).

En este metanálisis, se incluyen otros seis trabajos de suplementación con DHA a las fórmulas que se administraron durante la lactancia a recién nacidos a término. Debemos recordar que en estos pacientes, la acreción placentaria de DHA se ha mantenido hasta el final del embarazo, y al nacimiento el recién nacido tiene un estatus adecuado respecto al contenido tisular y plasmático de DHA.

Estas seis publicaciones incluían un total de 1000 niños y se seleccionaron, entre otros criterios, porque la valoración del neurodesarrollo se realizaba con el Test de Bayley versión II, entre los 12 y 18 meses de vida. Se trataba de ensayos en los que se comparaban lactantes que recibían fórmula suplementada con DHA introducida en el primer mes de vida, frente a controles que recibían fórmula no suplementada.

La conclusión del metanálisis es que la suplementación de fórmulas para recién nacidos a término con DHA no supuso ningún beneficio en cuanto al desarrollo cognitivo evaluado al año de vida.

Otros ensayos han utilizado diferentes tests para valorar el nivel de neurodesarrollo. El Test de Fagan a los 9 meses de vida ha sido uno de ellos, y los resultados tampoco fueron significativos (127).

En una publicación de Agostoni y cols (1995), se comparó el desarrollo psicomotor de niños nacidos a término suplementados con AGPI-CL (0,30% DHA y 0,44% AA) frente a niños no suplementados; a los 4 meses de edad, los resultados en el test de Brunet-Lézine fueron mejores para los niños suplementados pero no a los 24 meses (128).

Asímismo, se ha estimado el desarrollo cognitivo mediante una serie de tests de resolución de problemas, en niños nacidos a término. A los 10 meses de edad los niños del grupo suplementado con DHA y ARA eran capaces de una mejor resolución de los problemas planteados (129).

Sin embargo, en contraposición al anterior trabajo, Makrides y cols. (130), no encontraron diferencias en el test de desarrollo de Bayley a los 16 y 34 meses de edad, en niños a término suplementados con AGPI-CL.

También, se ha descrito la ausencia de efectos significativos de la suplementación con ARA y DHA sobre múltiples medidas del desarrollo general, procesamiento de la información, lenguaje y temperamento a lo largo de los primeros 14 meses de vida, aunque los niveles de DHA aportados eran muy inferiores a los de la leche materna (121).

En un grupo de niños alimentados con una dieta suplementada exclusivamente con ácidos grasos omega 3 hasta los 12 meses se ha observado que los niños presentaban valores más bajos en los test de vocabulario que aquellos niños que fueron alimentados con leche materna. Estos datos, sin embargo, no se observaron cuando la fórmula suplementada contenía AGPI-CL tanto de la serie omega 3 como omega 6, lo que indica la importancia del equilibrio entre estos dos grupos de ácidos grasos y sus necesidades en la infancia. A partir de los tres años, todos los grupos con distintas dietas obtuvieron resultados similares en los test (131).

Otros trabajos han valorado el desarrollo cognitivo en etapas más tardías de la vida de los niños.

En 2013 Colombo y cols. publicaron (132) los resultados de un ensayo aleatorizado en el que se incluyeron 81 niños repartidos en cuatro grupos. Se compararon tres porcentajes de suplementación distintos en la fórmula: DHA al 0'32, 0'64 y 0'96% así como ARA al 0'64%, frente a placebo. Los lactantes recibieron el producto hasta el año de vida. El desarrollo cognitivo de los voluntarios se valoró inicialmente a los 18 meses de vida aplicando el Test de Bayley en versión 2. En este punto no hubo diferencias entre los distintos grupos y el placebo. Sin embargo se siguieron haciendo valoraciones hasta los seis años de edad. Se evaluó memoria espacial, capacidad de aprendizaje, orientación temporo espacial, vocabulario y coeficiente de inteligencia. En el seguimiento a largo plazo sí se pudo comprobar que a los seis años los niños que habían recibido fórmula suplementada obtenían mejores resultados en cuanto al lenguaje y función ejecutiva. No se observaron diferencias en cuanto a los distintos niveles de suplementación.

Algunos autores, sin embargo sugieren que aunque los efectos de la suplementación son controvertidos, los beneficios podrían encontrarse en edades más tardías de la infancia (132).

En la misma línea, se postula otro ensayo en el que las madres recibieron suplementación con DHA en la segunda parte de la gestación. Se aleatorizó un amplio grupo de 315 gestantes en cuatro grupos: uno con suplemento de ácidos grasos (500 mg de DHA, 150 mg de EPA), otro con suplemento de 400 mcg de tetrahidrofolato, un tercero que combinaba ambos productos, y placebo. La intervención se inició en la semana 20 de gestación y concluyó al final del embarazo. Tras el parto se proponía e insistía a las madres en instaurar y promover la lactancia materna, pero se prepararon dos fórmulas adaptadas en caso de precisar lactancia mixta. A los grupos de niños cuya madres habían recibido ácidos grasos se les proporcionó una fórmula con 0'5% de DHA y 0'4% de ARA. A los niños de las madres de los grupos sin ácidos grasos se les dio la misma fórmula pero sin DHA ni ARA. Los hijos de estas mujeres fueron valorados a los cuatro y cinco años y medio de edad con distintos de tests de neurodesarrollo. Los resultados no mostraron diferencias significativas en cuanto a los distintos grupos. Sí se

encontró una correlación entre los niveles más altos de DHA en plasma materno y sangre de cordón y un mejor desarrollo neurológico. A pesar de ser un trabajo bien diseñado y con adecuado tamaño muestral, los autores reconocen que es preciso obtener más información sobre los beneficios de la suplementación en el desarrollo neurológico a medio y largo plazo (133).

Este trabajo nos lleva al último bloque a considerar, el de los ensayos en los que la suplementación se proporciona a las madres durante el embarazo o durante la lactancia si mantienen la misma.

Como ya se ha comentado en distintos puntos de esta revisión, los lactantes obtienen el DHA necesario para el rápido crecimiento cerebral de los primeros meses de vida de la dieta. En este sentido la lactancia materna proporciona el aporte adecuado para las necesidades del lactante. Las concentraciones de DHA en la leche materna pueden variar según las zonas. En general se considera una lactancia prolongada como un seguro de adecuado suministro de DHA.

Algunos estudios han detectado una mejor microestructura y volumen de la sustancia blanca así como mejor desarrollo cognitivo en los niños que recibían lactancia materna prolongada (134).

Otro interesante trabajo ha valorado la posible relación entre lactancia prolongada y algunos datos que se relacionan con la integridad funcional neuronal. En un grupo de 38 niños sanos de 9 años, se realizó resonancia magnética cerebral con secuencias de espectroscopia en las que se valoraron especialmente la corteza prefrontal y el córtex cingulado. Se dividieron los pacientes en dos grupos en función del tiempo de lactancia. Los que la habían recibido durante más de doce meses, con una media de 16 meses, y los que fueron amamantados menos de doce meses, con una media de tres meses. Se comprobó que los grupos eran homogéneos. En los de mayor duración de lactancia se comprobó la presencia de una mayor concentración de N acetil aspartato (un marcador de integridad neuronal) así como mayores cifras de glutamato y glutamina en las zonas estudiadas cuando se compararon con los de menor duración de lactancia. Se infiere que

la lactancia prolongada puede favorecer la integridad neuronal en regiones corticales que tienen que ver con la atención y la función ejecutiva (135).

En otro ensayo de 2006 (Helland y cols), se reclutó un grupo de 590 gestantes que en la semana 18 de embarazo fueron aleatorizadas para recibir un suplemento o bien de aceite de pescado (aporte aumentado de ácidos grasos omega-3) o bien de aceite de maíz (aporte aumentado de ácidos grasos omega-6). Hubo una importante pérdida de voluntarias y sólo 341 se mantuvieron en el estudio al final de la gestación. Los resultados muestran que las voluntarias que recibieron aceite de pescado mejoraron el estatus de DHA, tanto en ellas como en sus hijos. Por otra parte el consumo de aceite de pescado previno la disminución de colesterol HDL observado en las gestantes que consumían aceite de girasol (136).

Sobre la misma población los autores captaron 76 niños para someterlos a tests de valoración cognitiva a los cuatro años de edad. No se encontraron resultados significativos entre los grupos, pero la única variable con la que se encontró una correlación positiva respecto al desarrollo cognitivo fue el aporte aumentado de DHA a la madre durante la gestación (137).

En este ensayo la población fue mucho menos numerosa, pero los lactantes fueron valorados a los nueve meses con el Test de Fagan en relación a su desarrollo neurológico. Se establecieron dos grupos, el de madres que recibieron suplemento de DHA en su dieta desde la semana 24 de gestación hasta el parto, frente a las que recibieron placebo. Los lactantes de madres del grupo suplementado mejoraron en el apartado de resolución de problemas pero no hubo diferencias en cuanto a la memoria y capacidad de reconocimiento (138).

En otro trabajo de Makrides y cols. en el año 2010 (139) se incluyó un importante número de mujeres gestantes, 2399, que a partir de la semana 21 de embarazo fueron aleatorizadas a recibir cápsulas de aceite de pescado que contenían 800 mg de DHA frente a placebo. Aparte de la valoración de los síntomas de depresión tras el parto, fue valorado el impacto sobre el desarrollo de los lactantes aplicando el Test de Bayley a los

18 meses de vida. Se controlaron 726 lactantes y no hubo diferencias en cuanto a los ítems del área cognitiva ni del lenguaje.

Por último destacar una reciente revisión sistemática del año 2012 (140) para evaluar los efectos de los ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados omega-3 tras la suplementación en mujeres embarazadas y lactantes y los niños durante la vida postnatal en términos de agudeza visual, desarrollo psicomotor, rendimiento mental y el crecimiento de bebés y niños. De los dieciocho estudios revisados algunos mostraron efectos beneficiosos tras la administración de ácido docosahexaenoico durante el embarazo y / o lactancia, especialmente en los resultados de agudeza visual y algunos en el desarrollo neurológico a largo plazo; unos pocos, mostraron efectos positivos en el crecimiento. Muchos de estos estudios señalan un efecto beneficioso de la suplementación sobre la agudeza visual y desarrollo neurológico, y no encuentran efectos sobre el crecimiento. Señala así mismo esta revisión que los resultados deben ser interpretados con cautela debido a las limitaciones metodológicas de los estudios incluidos.

En resumen, respecto a la suplementación con DHA de las madres en la gestación o lactancia, o de los propios lactantes durante el primer año de vida, y el impacto sobre el desarrollo neurológico de sus hijos, existen numerosos ensayos y trabajos con resultados no claramente favorables a la suplementación.

### **1.1.7. Ácidos grasos Poliinsaturados de Cadena Larga y desarrollo visual del recién nacido.**

Los recién nacidos prematuros pueden experimentar problemas visuales con mayor frecuencia que el resto de la población. Esta situación afecta especialmente a los más inmaduros, con edades gestacionales inferiores a 32 semanas al nacimiento. Entre estos problemas se incluyen los defectos de refracción, el estrabismo y la ambliopía. La función visual es un proceso complejo que implica a diversas estructuras y en este sentido los pacientes prematuros pueden sufrir disfunciones a diversos niveles: agudeza visual, discriminación del contraste, visión estereoscópica, procesamiento de

la imagen en movimiento así como percepción espacial. Estas alteraciones pueden condicionar, junto con las anteriores, dificultades visuales que en parte influyan en otros problemas frecuentes en los prematuros como son las disfunciones para el aprendizaje y para una adecuada interacción social (141,142,143).

Diversas circunstancias clínicas asociadas a la prematuridad como pueden ser la retinopatía de la prematuridad, la encefalopatía hipóxico-isquémica, la hemorragia cerebral y la leucomalacia periventricular, pueden tener impacto en la función visual del paciente pretauro (144).

Junto a todos los factores mencionados se ha de tener en cuenta la deficiencia de ácidos grasos omega-3, y especialmente DHA, que sufren los recién nacidos prematuros y el impacto que ello tiene sobre la función visual.

Estudios experimentales en los años 90 del pasado siglo ya mostraron que en membranas artificiales, el contenido en DHA es importante para la máxima actividad fotoquímica de la rodopsina, haciéndola más sensible a la luz y al inicio de la señal nerviosa (145).

Otros trabajos en los que se mantenían fotorreceptores retinianos de rata en un cultivo celular, apreciaron como la adición de DHA al medio de cultivo prevenía la degeneración del cultivo y la apoptosis, o muerte celular programada, de los fotorreceptores. Otro factor beneficioso que se apreció respecto a la adición del DHA al medio de cultivo, y que no se apreció al añadir otros ácidos grasos, fue la maduración de los fotorreceptores indiferenciados. La presencia de DHA favoreció cambios estructurales que aparecen in vivo pero no in vitro, como el desarrollo del extremo apical (conos o bastones). Asimismo el DHA en el cultivo favoreció la expresión de la rodopsina en los fotorreceptores en mayor grado que en los cultivos que no tenían DHA, hasta un 40% más. Incluso se apreció otro dato favorable, el DHA consiguió que la mayor concentración de rodopsina se produjera en el extremo apical de los



neuroreceptores y no se distribuyera de modo homogéneo por toda el neurolema (146).

Estudios en animales demostraron asimismo que en ratas y primates que fueron sometidos a una dieta pobre en ácidos grasos omega-3 en el equivalente a los primeros meses de vida, se produjeron cambios en el comportamiento, peor respuesta visual a la luz y disminución de la agudeza visual al compararlas con los controles. Estas respuestas no mejoraron al introducir un aporte adecuado de ácidos grasos omega-3 cuando los individuos ya eran adultos. Estos datos sugieren que hay un proceso crítico en los primeros meses de vida de acumulación de DHA a nivel retiniano y cerebral, y que si no ocurre pueden presentarse complicaciones irreversibles a largo plazo (147;148).

El DHA se necesita para la transformación del estímulo visual en estímulo nervioso y para la regeneración de la rodopsina, el pigmento retiniano que recibe inicialmente el estímulo visual. En la membrana externa de los receptores de los conos y bastones, el DHA supone casi la mitad de los ácidos grasos presentes, y esto favorece la fluidez de la membrana en esa zona concreta. La presencia del DHA en un momento concreto del desarrollo es indispensable para la diferenciación de los fotorreceptores (149).

El DHA también tiene influencia sobre el proceso de mielinización en el sistema nervioso. Protege los oligodendrocitos premielinizantes que inician el recubrimiento de los axones y que se transformarán en oligodendrocitos mielinizantes (150).

Se propone incluso un mecanismo más por el que el DHA puede mejorar la función visual. La mejoría en la funcionalidad de los receptores en su presencia, permite que otros factores como la mielinización de la vía visual o el establecimiento de sinapsis más eficientes progresen con mayor rapidez (151). En humanos se han apreciado hallazgos similares.

En 1998 se publicó un trabajo que demostraba que la agudeza visual en niños

prematuros con dietas deficitarias en ácidos grasos omega-3 era más pobre de lo que correspondería, en relación a la inmadurez de sus fotorreceptores (152).

Estudios posteriores señalaron cómo la maduración de la sensibilidad de los bastones está enlentecida en los pacientes prematuros, y puede verse afectada por situaciones habituales en ellos, como los déficits nutricionales y la pobre vascularización retiniana(153).

Por otra parte, el DHA desempeña un importante papel relacionado con la integridad visual, ya que interviene en el correcto funcionamiento de las células ganglionares que conectan los fotorreceptores con la corteza visual en la región occipital. También se debe tener en cuenta su efecto antioxidante, que beneficia especialmente a las células ganglionares, y más en una población que es especialmente susceptible a los daños por estrés oxidativo (154).

En la década de los 80 del siglo pasado empezaron los trabajos de suplementación de la dieta de niños prematuros con ácidos grasos omega-3 con la intención de mejorar la capacidad visual de estos pacientes. La supervivencia de estos pacientes prematuros, y sobre todo los de muy bajo peso, mejoró sustancialmente a lo largo de las décadas de los 70 y 80 del siglo XX. Entre el soporte que estos recién nacidos precisaban en las primeras semanas de vida se incluía la atención a su situación nutricional. Como ya se ha comentado estos niños que nacen de modo prematuro no reciben el aporte incrementado de DHA que la placenta proporciona al feto en el tercer trimestre de gestación. Pero el estatus de DHA puede empeorar incluso tras el nacimiento puesto que las soluciones de lípidos de la nutrición parenteral no suelen aportar una cantidad adecuada de ácidos grasos omega-3, y también es conocido el déficit nutricional global que sufren los recién nacidos muy prematuros en las primeras semanas de vida, asociado a diversas circunstancias clínicas (155).

En este contexto surge el interés por los ácidos grasos omega-3, toda vez que su

presencia ha sido bien identificada en la leche humana, considerando los posibles efectos beneficiosos potenciales a nivel de neurodesarrollo y de mejora de la agudeza visual.

En un antiguo trabajo de 1990 (156), se reclutaron pacientes prematuros de 27 a 33 semanas de edad gestacional y con pesos al nacimiento de entre 1000 y 1500 g. Desde la primera semana de vida y hasta el alta se aleatorizaron a recibir fórmulas adaptadas con diversas suplementaciones. Estas fórmulas contenían predominio de ácidos grasos omega-6, otra mezcla equilibrada de ácidos grasos omega-3 y omega-6 y en la tercera se mantuvo la fórmula de la segunda pero se le añadió un suplemento de DHA que consiguió una composición similar en ácidos grasos a la de la leche materna. Aparte se incluyó un grupo de alimentados con leche materna. A las 36 semanas de edad postconcepcional los prematuros fueron evaluados mediante electroretinograma respecto a su agudeza visual. Los resultados obtenidos mostraron que los niños alimentados con la fórmula sin ácidos grasos omega-3 presentaron los peores resultados en la medida del desarrollo visual, mostrando los alimentados con fórmula con DHA unos resultados muy similares a los del grupo alimentado con leche materna.

En otro estudio de 1996 se midieron potenciales evocados en niños prematuros con una edad gestacional de 31 semanas, los cuales se dividieron en tres grupos que tomaron leche materna, fórmula suplementada con ácidos grasos omega-3 (0,23% DHA), o fórmula sin suplementar. A las 52 semanas de edad corregida, se midieron los potenciales evocados, obteniendo los grupos alimentados con leche materna y el suplementado con DHA unos resultados similares, mientras que en el grupo que no se suplementó, los resultados de los potenciales visuales auditivos mostraron una agudeza visual inferior (157).

En este otro ensayo de 1993 se aleatorizaron recién nacidos prematuros en dos grupos, alimentados con fórmula suplementada con aceite de pescado o no suplementada. La evaluación de la agudeza visual se evaluó a los dos y cuatro meses de edad corregida. Los resultados fueron muy favorables a la suplementación. Los niños del grupo

suplementado mostraron mejor agudeza visual y mejor progresión que los del grupo control. A partir de los seis meses de vida la diferencia se atenuaba (158).

El mismo grupo publicó un nuevo ensayo en 1996 en el que comparaba el efecto de la suplementación con DHA en prematuros de extremo bajo peso comparando aquellos niños que presentaban displasia broncopulmonar con los que no la presentaban. Los resultados mostraron que los niños con displasia presentaban peor agudeza visual independientemente del grupo. Entre los que no tenían displasia hubo una mejoría de la agudeza visual en los primeros meses de vida, que no persistió más allá del sexto mes de edad corregida (159).

Los trabajos realizados en los años finales del siglo XX quedaron recogidos en el año 2000 en un metanálisis sobre los efectos de la suplementación con ácidos grasos omega-3 en pacientes prematuros, que incluyó cinco artículos, cuatro de ellos de ensayos aleatorizados. Las conclusiones del mismo reflejan que hay una mejor agudeza visual, medida en el primer año de vida, en los recién nacidos prematuros que habían consumido fórmulas suplementadas con DHA o con una mezcla de ácidos grasos omega-3. (160) A pesar de ello los autores puntualizan las dificultades encontradas al tratar de homogeneizar los resultados de los trabajos pues había diferencias apreciables entre las dosis utilizadas, el tiempo de administración e incluso la procedencia del DHA.

En esta línea se han realizado diversos ensayos de suplementación con DHA o ácidos grasos omega-3 a recién nacidos a término. El primero de ellos, un ensayo aleatorizado fué publicado en 1996, tras diversos trabajos con una metodología algo inferior. Se diseñaron tres grupos, alimentados con leche materna, con fórmula estándar y con fórmula suplementada con DHA al 0,1%, cada uno con veinte recién nacidos. La intervención se prolongó durante tres meses. La agudeza visual se valoró a los dos, cuatro y nueve meses. Los resultados mostraron una agudeza visual similar entre el grupo suplementado y el de lactancia materna, y superiores en ambos casos a los del grupo de fórmula estándar. Estos efectos se mantuvieron en los primeros meses

de vida pero se fueron atenuando en el segundo semestre de la vida (161).

Un ensayo de suplementación de lactantes a término realizado en 1998, incluyó a 109 recién nacidos a término que se aleatorizaron en distintos grupos: leche materna exclusiva, fórmula suplementada con DHA, suplementada con DHA y ARA o placebo. El resultado fue satisfactorio para los niños que recibieron fórmulas suplementadas. En el seguimiento que se hizo durante el primer año de vida se comprobó como la agudeza visual medida mediante potenciales evocados visuales fue similar en los grupos suplementados a la de los niños que recibieron leche materna, y en todo caso superior a la de los niños que no recibieron fórmula no fortificada (162).

Otros ensayos encontraron resultados menos favorables.

En un trabajo de 1997, realizado se tomó un grupo control de 34 recién nacidos amamantados y se comparó con tres grupos que recibieron fórmula. Uno de los grupos recibió fórmula sin suplementar y los otros dos suplementos de DHA aislado o de DHA con ARA. Los resultados no mostraron diferencias entre grupos respecto a los potenciales evocados visuales, a pesar de que se apreció cómo realmente el estatus de ácidos grasos varió y los del grupo no suplementado presentaban menor contenido de DHA tanto en plasma como en la membrana de eritrocitos (163).

Las publicaciones de estos años permitieron en el año 2000 la realización de un metanálisis sobre el efecto de la suplementación con ácidos grasos omega-3 en recién nacidos a término y su impacto sobre la agudeza visual. Se incluyeron doce ensayos tanto aleatorizados como no aleatorizados. Las conclusiones fueron que las valoraciones a los dos y cuatro meses de vida la agudeza visual era mejor en el grupo de pacientes suplementados. Sin embargo los autores comunicaban que no había datos suficientes para garantizar que esta mejoría detectada en los primeros meses de vida, se mantuviera de modo más prolongado (160).

En los últimos quince años ha continuado la investigación relacionada con este tema.

Se siguen realizando ensayos tanto en prematuros como en recién nacidos a término y se realizan cada vez más trabajos en los que la suplementación se ofrece a madres lactantes. Algunos de los trabajos más relevantes se detallan a continuación.

En 2002 se publicaron los resultados de un ensayo en el que se aleatorizaron niños a término en dos grupos. Por un lado los que recibieron fórmula suplementada desde el nacimiento frente a los que recibieron leche materna hasta las seis semanas de vida pero luego pasaron a recibir una fórmula no suplementada. El grupo de los no suplementados tras el periodo de lactancia mostraba una agudeza visual menor a las 17, 26 y 52 semanas de vida que los niños con fórmula suplementada desde el principio. Estos resultados se correlacionaban con las concentraciones de DHA en el plasma sanguíneo y en los eritrocitos (131). Los autores sugerían a la vista de los hallazgos que el periodo crítico para el suministro dietético de ácidos grasos omega-3 en los lactantes se extiende a un periodo mayor de seis meses.

Destaca un interesante ensayo: DIAMOND Trial. En el mismo, trescientos cuarenta y tres niños a término fueron aleatorizados en cuatro grupos (0% DHA, 0,32%, 0,64%, 0,96%) según el nivel de suplementación en DHA de las fórmulas que recibían. Las fórmulas aportaban un porcentaje fijo de ácido araquidónico del 0,64%. Se realizaron Potenciales Evocados Visuales (PEV) al año de vida y los resultados fueron muy favorables en el grupo que recibió fórmulas suplementadas frente a placebo. Sin embargo, no hubo diferencias entre los distintos niveles de suplementación.

Los resultados hablaban claramente en favor de la suplementación en las fórmulas adaptadas para los niños a término incluso en niveles bajos de suplementación (164).

En 2003 se publicó un trabajo realizado con mujeres sudafricanas a las que se intentó incrementar su aporte de DHA con un medio poco frecuente. Se trata de uno de los primeros trabajos de suplementación a gestantes con el interés de mejorar el estatus de DHA del hijo. Se administró a las gestantes un suplemento de DHA con el consumo de

huevos de alto contenido en DHA, 135 mg por huevo frente a los 18 mg por unidad de los huevos normales. Se consiguió mejorar el estatus de DHA tanto de madres como de los lactantes (165).

En 2005 se publicó un estudio, interesante considerado que la población era un grupo de mujeres danesas, entorno en el que el consumo de pescado es habitualmente elevado. Se trataba de 103 mujeres lactantes que tenían una ingesta de pescado inferior a la habitual en su entorno y fueron comparadas con otras 53 madres con una ingesta de pescado en la media o superior. Las 103 mujeres del primer grupo se aleatorizan a recibir un compuesto de aceite de pescado (aporte de 1300 mg diarios de ácidos grasos omega-3) o uno de aceite oliva, prácticamente exento de ácidos grasos omega-3, durante los cuatro primeros meses de vida de sus hijos. A éstos se les realizaron Potenciales Evocados Visuales a los dos y cuatro meses para valoración de la agudeza visual. Los resultados mostraron que no hay diferencias entre grupos en la valoración de la agudeza visual en las mediciones realizadas. Sí se encontró correlación entre una mejor agudeza visual y niveles más elevados de DHA en la membrana eritrocitaria. Resultan por tanto interesantes las conclusiones en la medida en que están obtenidas en una población en la que el consumo de pescado suele ser superior al entorno de los países del sur de Europa. A pesar de ello se comprobó como las mujeres que recibieron suplemento con DHA realmente tuvieron una mejoría en su estatus de DHA con incrementos importantes confirmados tanto en los niveles plasmáticos de DHA como en los de las membranas eritrocitarias, aunque como dejan claras las conclusiones, ello no supuso una ventaja respecto a la agudeza visual (166).

En 2011, un ensayo incluyó a gestantes que recibieron suplementación con 800 mg diarios de DHA desde la mitad de la gestación hasta el parto. La importancia de este ensayo deriva de que utiliza dosis más altas de lo habitual de DHA. El objetivo primario fue la agudeza visual, valorado mediante PEV a los cuatro meses de vida. Se incluyeron 185 niños a término en el estudio. No se apreciaron diferencias entre grupos respecto a la agudeza visual. Sí se encontró un estatus mejorado de DHA en el grupo de intervención, pero ello no supuso mejoría en cuanto al resultado primario (167).

En un interesante estudio de 2012, se valoró el impacto que sobre la agudeza visual y auditiva de 581 niños mejicanos divididos en dos grupos, pudo tener la suplementación materna en la segunda mitad de la gestación. Ésta consistía en 400 mg de DHA diarios frente a placebo. A destacar de este estudio que la población incluída tenía una dieta con una ingesta elevada de ácidos grasos omega-6 pero bastante escasa de ácidos grasos omega-3, de manera que era un entorno muy adecuado para valorar de modo aislado el impacto del suplemento de DHA. La agudeza visual de los lactantes se valoró a los tres y seis meses de vida con Potenciales Evocados Visuales. No se encontraron diferencias en cuanto a las distintas medidas de latencia y amplitud recogidas en los PEV entre los dos grupos. Como fortalezas del estudio hay que destacar el numeroso grupo de pacientes, el mayor hasta la fecha según los autores. También se comprobó que el grado de adherencia de las madres al protocolo era elevado y también, y muy importante, que el grado de variabilidad entre los valoraciones de los PEV era muy reducido otorgando plena validez a la técnica. Como debilidades hay que señalar el hecho de que la suplementación se finalizó en el momento del parto (168).

En resumen, parece haber cierta evidencia en favor de que sobre todo los niños nacidos de modo prematuro se benefician de recibir dietas suplementadas con DHA. Sin embargo la gran heterogeneidad de los estudios hace que los resultados no sean siempre consistentes y posiblemente justifique el hecho de que los efectos beneficiosos se atenúan a partir de los seis meses de vida. Además hay que tener en cuenta ciertas limitaciones en los trabajos, como por ejemplo el hecho de comparar niños que recibían el DHA suplementado en la fórmula adaptada frente a otros en los que el suplemento lo recibía la madre. Otra dificultad sugerida estriba en las diferentes dosis de suplementación utilizadas. Sobre todo en pacientes prematuros, la concentración habitual de DHA de la leche humana podría ser insuficiente, y en este sentido las fórmulas con unos niveles en torno al 0'3% de DHA podrían resultar escasos para los grandes inmaduros, dificultando la interpretación de los resultados de los trabajos. De hecho, como ya se ha comentado en el anterior apartado, seguramente el objetivo de la suplementación debe ser más alto del habitualmente propuesto.



Por último, comentar un reciente metaanálisis que incluía a 1949 niños y en el que se valoraban el impacto de la suplementación con DHA sobre la agudeza visual. Confirmó la mejora de la capacidad visual en los niños que recibieron fórmula suplementada (169). Este trabajo resulta especialmente interesante puesto que incluye ensayos de una gran heterogenicidad: niños a término y prematuros, distintos niveles de suplementación y durante tiempo variables, PEV realizados en distintos momentos a lo largo del primer año de vida. Y a pesar de ello el resultado siempre fué favorable a la fórmula suplementada con DHA.

## **1.2. Valoración del desarrollo cognitivo y visual en lactantes.**

### **1.2.1. Escalas de desarrollo infantil.**

Las escalas de neurodesarrollo en pediatría están constituidas por un repertorio de conductas agrupadas en áreas (motriz, social, cognitiva, etc.) consideradas como esperables o típicas en determinadas etapas o edades del desarrollo. En general las evaluaciones son en los primeros años de vida.

Los objetivos de las escalas de neurodesarrollo son:

- Conocer las habilidades del niño en relación a un grupo de la misma edad.
- Determinar el nivel de desarrollo del niño en términos estadísticos.
- Identificar áreas de desarrollo que pueden ser estimuladas o no.
- Corroborar cambios en el desarrollo a lo largo del tiempo.
- Documentar los efectos de complicaciones médicas y tratamientos.

Muchas de las escalas de desarrollo infantil utilizadas hoy, están basadas en test y observaciones realizadas entre veinte y cuarenta años atrás, sobre pequeños grupos de niños con distribución geográfica y socioeconómica limitada.

Las escalas de neurodesarrollo más utilizadas en la actualidad son:

- Escala de Amiel Tisson.
- Escala de evaluación del desarrollo psicomotor (EEDP).
- Test de desarrollo psicomotor (TEPSI).
- Wisc.
- Escala Bayley de desarrollo mental, motor y del comportamiento.

La Escala de Desarrollo Infantil de Bayley surgió como una respuesta a la constante preocupación de lograr resultados más exactos, se fueron combinando diversos medios y profesionales al pasar de los años para llegar hoy a la escala Bayley. La Escala de Desarrollo Infantil de Bayley (BSID) fue diseñada y validada por Nancy Bayley de la Universidad de Berkeley en el año 1969 para evaluar niños con edades comprendidas entre el nacimiento y los 30 meses. Posteriormente se revisa en el año 1984 y por último en 1993 donde se extendió su rango de aplicación hasta los 42 meses. Las BSID han sido diseñadas de acuerdo a los requisitos señalados anteriormente para constituir una medida fiable en la investigación con niños pequeños.

Las escalas Bayley de desarrollo infantil son valoradas como las más adecuadas para valorar el desarrollo infantil hasta los dos años y medio de edad ya que cubren ampliamente las áreas: mental, psicomotriz y de comportamiento y de esta forma proporcionan una fuente de datos particularmente generosa para efectuar análisis factoriales, agrupaciones u otros tipos de análisis de contenido. En definitiva, proporcionan una triple base de evaluación del desarrollo del niño en los dos años y medio primeros de su vida, las tres partes se consideran complementarias, proporcionando cada una de ellas una contribución propia a la evaluación clínica.

Los objetivos de este test contemplan:

- Establecer el nivel de desarrollo actual de un niño y, por tanto, el alcance de cualquier desviación de las expectativas normales.
- Proporcionar una base para introducir unas medidas tempranas de tipo correctivo

cuando el niño manifiesta signos evidentes de retraso mental o psicomotor.

- Proporcionar información útil para la formulación de pistas sobre dicho retraso (alteración sensorial, neurológica, emocional, condiciones ambientales desfavorables...).
- Los ítems que evalúan esta escala están agrupados en dos escalas (Mental y Motora) y un Registro de la Conducta Infantil.

La Escala Mental ha sido preparada para evaluar los siguientes aspectos:

- La agudeza sensorio-perceptiva, la discriminación y la capacidad de respuesta a estímulos.
- La adquisición temprana de la constancia del objeto y de la memoria, el aprendizaje y capacidad de resolución de problemas y la capacidad temprana para generalizar y clasificar, base del pensamiento abstracto.
- Las vocalizaciones al comienzo de la comunicación verbal.
- Capacidad temprana para generalizar y clasificar, base del pensamiento abstracto.
- Los resultados de la Escala Mental se expresan en puntuaciones típicas o Índices de desarrollo Mental (IDM).

La Escala de Psicomotricidad evalúa:

- El grado de control del cuerpo.
- La coordinación de los músculos grandes del cuerpo.
- Las habilidades manipulativas de manos y dedos

Esta escala va dirigida específicamente a los comportamientos que implican destreza y coordinación psicomotora y no está relacionada con las funciones que por su naturaleza comúnmente se denominan Mentales o Inteligentes.

Los resultados de esta Escala se expresan en puntuaciones típicas o Índice de Desarrollo Psicomotriz, (PDI)

El Registro del Comportamiento del niño se completa después de la aplicación de las Escalas Mental y de Psicomotricidad. Este registro ayuda a evaluar la naturaleza de las Orientaciones sociales y objetivas del niño hacia su entorno expresadas en actitudes, intereses, emociones, energía, actividad, tendencias de aproximación o evitación de los estímulos, relación con la madre o tutor y relación que establece con los materiales de la prueba.



**Figura 3. Material empleado en el Test de Bayley.**



**Figura 4. Realización Test de Bayley**

## **1.2.2. Potenciales evocados visuales.**

### **1.2.2.1. Introducción.**

Los Potenciales Evocados Visuales corticales (PEV) con estímulo estructurado son una técnica que evalúa sobre la vía visual al completo desde la retina hasta el córtex, y permiten valorar la existencia de posibles lesiones a lo largo de la misma.

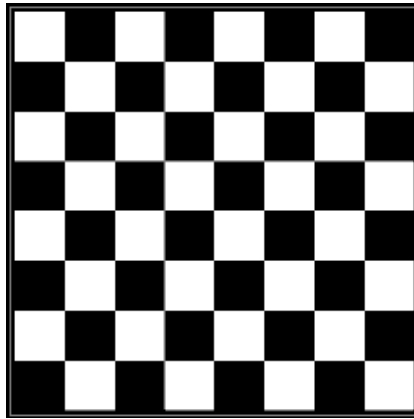
El origen de los PEV se presume en la corteza visual primaria en el lóbulo occipital alrededor de la cisura calcarina (170) y corresponde preferentemente a la respuesta retinotópica de las áreas macular y perimacular de la retina ante un estímulo luminoso.

### **1.2.2.2. Potenciales visuales evocados con estímulo estructurado.**

En pacientes que no son capaces de colaborar en la realización de PEV con estímulo estructurado, se pueden utilizar los de estímulo flash. Se obtiene exponiendo al paciente a destellos breves de 1 a 5 milisegundos de duración que se presentan al paciente mediante una lámpara de estimulación.

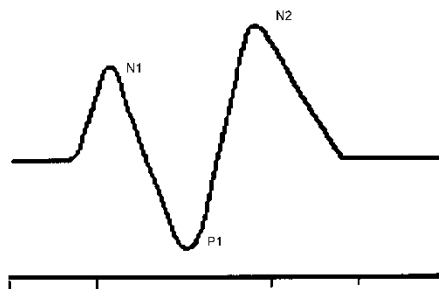
En nuestro estudio elegimos los PEV con Estímulo Estructurado:

Los estímulos de tipo estructurado más utilizados en la práctica clínica son el senoide (vertical u horizontal), las rejillas (verticales u horizontales) y el damero (Figura 5).



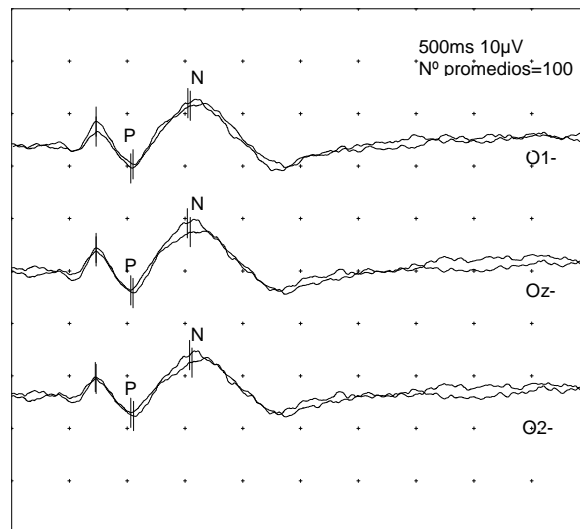
**Figura 5. Estímulo estructurado tipo damero.**

En este caso la respuesta cortical obtenida al aplicar un estímulo visual consiste en una onda negativa-positiva-negativa (Figura 6).



**Figura 6. Componentes del potencial evocado visual con estímulo estructurado**

La máxima positividad aproximadamente a los 100 milisegundos (ms) en el adulto. Dicha respuesta queda definida por la latencia de los picos N1, P1 y N2, así como por la amplitud de la respuesta obtenida medida desde el pico N1-P1 y P1-N2



**Figura. 7. Ejemplo de potenciales evocados visuales con estímulo estructurado en adulto.**

Existen una serie de parámetros que definen este estímulo estructurado:

- Angulo de estimulación.
- La latencia y la amplitud se modifican al variar el tamaño de los cuadrillos de la pantalla de presentación del estímulo o la distancia del observador al damero. Por tanto, el tamaño con el que la imagen se proyecta en la retina está en función de los citados parámetros.
- El ángulo de estimulación corresponde a la superficie de la retina sobre la que subciende un cuadro del damero. Se mide en minutos de arco del campo visual.
- La disminución del tamaño de los cuadrillos del damero supone habitualmente un aumento de la latencia y disminución de la amplitud. La amplitud también se ve influida por la región retiniana estimulada. Mientras que los cuadrillos de tamaño más pequeño (7.5'-30') estimulan preferentemente la fovea, los de tamaño más grande (45'-120') estimulan la retina periférica.
- Cuando se trabaja con lactantes es necesario conocer que el tamaño óptimo del damero para evocar una respuesta varía durante los 6 primeros meses de vida (171). Al mes de vida es de 120', a los 2 meses de 60', a los 3-5 meses de 30' y a

los 6 meses o más de 15'. Si no se evocara respuesta con los citados tamaños, se multiplica por dos el tamaño del cuadro y con dicho tamaño se estimula.

- Tamaño del campo. Debe ser 8-10° centrales del campo visual.
- Distancia del paciente a la pantalla Los niños lactantes se suelen posicionar a 0.50-1 metro.
- Contraste. El contraste debe ser superior al 80%, ya que si es inferior disminuye la amplitud y aumenta la latencia de la respuesta. Está en relación a la diferencia de luminancia entre los cuadros claros y los oscuros.
- Luminancia. Corresponde a la intensidad de luz y se mide en candelas/m<sup>2</sup> (cd/m<sup>2</sup>).
- Cuando la luminancia es baja aumenta la latencia de la respuesta y disminuye su amplitud. Debe permanecer constante durante el estudio y entre diferentes estudios. La luminancia debe ser superior a 120 cd/m<sup>2</sup>.
- Color. El damero debe ser blanco y negro para conseguir que el contraste sea alto.
- Frecuencia de presentación. Los estímulos estructurados pueden presentarse con una frecuencia de estimulación continua o intermitente. Los PEV de tipo intermitente utilizan un intervalo interestímulo más prolongado que el del tipo continuo, permitiendo al cerebro recuperar la situación de reposo. Con este método es más fácil el análisis de los componentes de amplitud y latencia. La frecuencia de presentación más recomendada es 2 Hz, es decir, un intervalo interestímulo de 500 mseg.

### **1.2.2.3 Parámetros de Registro.**

- Filtros. La Sociedad Internacional de Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV) recomienda la utilización de un filtro de baja frecuencia de 1 Hertzio (Hz) y uno de alta de 200-300 Hz, aunque la mayoría de los laboratorios utilizan un filtro de alta frecuencia de 100 Hz.
- Duración del barrido. Corresponde al tiempo de registro desde que se presenta el



damero. Debe mantenerse al menos 250 mseg después de cada estímulo (generalmente 300-500 mseg). En lactantes se mantiene 500 mseg.

- Sensibilidad. Corresponde a la ganancia de la señal observada en el osciloscopio.
- Número de respuestas promediadas. El número de respuestas promediadas está en función del ruido del registro y de la amplitud de la respuesta. En adultos deben promediarse entre 80 y 100 respuestas libres de artefacto. Cuando se trabaja con niños pequeños, suelen ser suficientes 30-50 respuestas para conseguir un potencial bien definido. Deben obtenerse al menos dos promediaciones para cada condición estudiada. Entre ellas la diferencia en la latencia de la P100 no debe ser superior a 5 mseg y la diferencia en la amplitud no debe ser superior al 10%.
- Electrodo de registro. En lactantes la Sociedad Internacional de Electrofisiología Clínica de la Visión (ISCEV) recomienda colocar los electrodos activos sobre el inion(Oz) y dos a ambos lados del mismo a una distancia de 1 cm (denominados O3 y O4). El electrodo de referencia debe colocarse en Fz y el de tierra sobre el vertex.
- Derivaciones. Con lo anterior, las derivaciones utilizadas serán O3-Fz, Oz-Fz y O4-Fz para lactantes.

#### **1.2.2.4. Parámetros del Paciente.**

- Atención. Tanto la somnolencia como una fijación incorrecta pueden modificar las características de la respuesta. Este factor es especialmente importante en las exploraciones que se realizan en lactantes-niños.
- Edad. La latencia sobre todo va variando en los 4-5 primeros años de vida en función de la maduración del sistema visual (172). La latencia de los diferentes componentes disminuye al aumentar la edad, siendo similar a la del adulto alrededor de los 5 años. Al mes de vida, los PEV ante patrones grandes aparecen como una onda positiva (P1) de poca amplitud, mientras que no se obtiene respuesta con patrones pequeños. A los 2 meses ya se obtiene una gran onda positiva precedida y seguida por potenciales negativos (N1 y N2), asimismo

aparece una onda positiva ante estímulo pequeños. A los 3 meses aparece un segundo componente positivo ante estímulos grandes y a los 9 meses ante estímulos pequeños (143). Cuando el estímulo es de tipo estructurado y con presentación intermitente dicha respuesta evoluciona hasta alcanzar valores similares a los del adulto alrededor de los 5 años (142, 143,173).

La latencia es el parámetro más constante, por lo que se convierte en un indicador fiable de maduración cerebral. En los niños una latencia prolongada puede hacer sospechar la existencia de ambliopía o retraso de la maduración visual. Por el contrario, la amplitud presenta una utilidad clínica más limitada, ya que está expuesta a variaciones inter e intraindividuales y se ve afectada tanto por artefactos como por la atención (143).

### **1.2.3. Utilidad de los potenciales evocados en niños y lactantes.**

Es fundamental el conocimiento del correcto desarrollo del sistema visual en edades pediátricas puesto que cualquier acontecimiento potencialmente lesivo que acontezca en esta época puede originar alteraciones estructurales y funcionales en un sistema que se encuentra en su mayor periodo crítico de plasticidad neural y, por tanto, en el momento en el que se está organizando el sistema neuronal del córtex visual (174, 175). La exploración mediante PEV es una técnica simple, no invasiva, y particularmente apropiada para los bebés y los niños pequeños que no pueden colaborar en las técnicas estándar de evaluación de la visión.

Sin embargo es precisamente en los primeros meses de vida cuando esta técnica se complica por los requerimientos necesarios para su correcta obtención. Debido a las dificultades técnicas mencionadas, son pocos los estudios publicados en los que se realicen PEV con estímulo estructurado de tipo intermitente en edad pediátrica con mención expresa a la creación de tablas de normalidad, mucho más escasos que en adultos. (143,176,177,178,179).







---

## **2. JUSTIFICACIÓN.**

---

---

---

## **2. JUSTIFICACIÓN.**

La evidencia científica disponible señala la importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en aspectos muy relevantes de la salud del ser humano y así son reconocidos su implicación en la prevención de la enfermedad cardiovascular, su participación en mecanismos antiinflamatorios, de estrés oxidativo y de inmunidad

Por otra parte, en el area de la Pediatría, desde hace años numerosos estudios han revelado cómo los niveles de DHA en el plasma materno durante la gestación influyen en el desarrollo de las funciones cognitivas y neurológicas del neonato (27). A este dato se une otro de gran relevancia, como es la alta demanda que se genera durante el embarazo tanto de ácidos grasos omega-6 como de omega-3 por parte del feto que los obtiene preferentemente de la transferencia placentaria (76).

Por este motivo en lo que son consideradas etapas vulnerables del desarrollo, como son el embarazo y la lactancia, se recomienda un alto consumo de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 ya que los niveles de DHA materno descienden durante el embarazo (23) y continúan descendiendo si el periodo de lactancia es largo (157).

Estos datos han sido la base de múltiples estudios epidemiológicos realizados en los últimos años que analizan el valor de la suplementación de la gestante y de la mujer que lacta con DHA. A pesar de los beneficios demostrados en el desarrollo neurológico del feto y del neonato, la prolongación de la gestación, el peso al nacimiento y los beneficios sobre el proceso inflamatorio, la ingesta recomendada de AGPI-CL en el embarazo no ha sido establecida con unanimidad (70). Hay estudios que no comparten estos resultados (72,73), otros no demuestran que esos beneficios se mantengan a largo plazo, no encontrando diferencias significativas entre grupos suplementados y grupos no suplementados en la primera infancia (74,75).



En definitiva, sigue existiendo mucha controversia al respecto. Las controversias existentes se pueden atribuir a los múltiples factores y las diferentes condiciones de los estudios, como la edad gestacional, la dieta de la madre (incluyendo la ingesta de DHA de los alimentos como el pescado), el tiempo de suplementación (la gestación, la lactancia o ambos períodos), vía empleada para la suplementación (principalmente por cápsulas),...Por otra parte, la mayoría de los estudios aportan datos sobre niveles plasmáticos de DHA (180,181), sólo con información estática y puntual acerca de la dieta materna, pero que no representan las modificaciones en el perfil lipídico de otros tejidos o fluidos orgánicos, tales como eritrocitos, y la leche madre. Este es un aspecto del que es importante obtener la máxima información, el referido a los perfiles lipídicos en la madre y el recién nacido, y la posible influencia de la administración de suplementos de aceite de pescado en estos parámetros, ya que hay algunos otros ácidos grasos importantes con influencia en el desarrollo visual y neurológico, tales como el ácido araquidónico y ácido nervónico (118, 119, 182,183) lo que podría ser modificado por esta intervención y ser parcialmente responsable de sus efectos.

Los estudios realizados hasta la fecha tienen como objetivo principal el diseño de estrategias de intervención dietética encaminadas a mejorar estas áreas del desarrollo en el recién nacido y lactante. Dichas estrategias basadas en la suplementación de la dieta se han dirigido tanto a la gestante, a la mujer que amamanta como a los propios lactantes.

En la actualidad, en la evidencia de que la lactancia materna es el alimento ideal para todo recién nacido, y se recomienda en exclusiva como único alimento hasta los seis meses de vida, se plantea la oportunidad de valorar el impacto que la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga administrados durante el embarazo y la lactancia pueda tener en el desarrollo del hijo, con la transmisión de estos suplementos a través de la placenta y posteriormente de la leche materna.

Pese a los muchos estudios publicados en la última década referidos a distintas estrategias de suplementación tanto en mujeres como en niños, los datos no son concluyentes, ya que son muchos los factores que modulan la dieta de la mujer durante

la gestación y la lactancia y aún surgen dudas sobre el verdadero impacto de la suplementación, la duración de su efecto así como las dosis que se considerarían óptimas.

Los estudios publicados hasta la fecha comprenden periodos de intervención dietética referidos en exclusiva a la gestación o lactancia y son muy pocos los que abarcan conjuntamente ambos periodos (184).

El presente estudio pretende aportar información sobre el impacto que la suplementación de la alimentación de la gestante con DHA en dosis medias durante el último trimestre de la gestación y durante los primeros cuatro meses de lactancia materna puede tener en el desarrollo visual y neurológico del lactante en su primer año de vida. Esto supone un periodo de seguimiento y estudio prolongado, tanto en la mujer como en su hijo. Paralelamente, la descripción del perfil de transferencia del DHA suministrado a la mujer a través de placenta y leche materna a su hijo, podrá sentar las bases para el establecimiento de recomendaciones sobre el modelo de suplementación de la dieta de la gestante y mujer que lacta así como los hábitos dietéticos con potencial efecto en la salud de ambos: madre e hijo.

Todos estos factores ayudarían a profundizar en los efectos de DHA, aportando un poco de luz a las controversias observados hasta ahora en la literatura científica.



---

### **3. OBJETIVOS.**

---



### **3. OBJETIVOS.**

#### **3.1. Objetivo principal.**

Analizar si la administración de un suplemento diario de un producto lácteo enriquecido con aceite de pescado (320 mg de DHA y 72 mg de EPA) a la mujer embarazada durante el último trimestre de gestación y el periodo de lactancia puede influir en el desarrollo visual y cognitivo del recién nacido.

#### **3.2. Objetivo secundario.**

Analizar si la administración de un suplemento diario de un producto lácteo enriquecido con aceite de pescado (320 mg de DHA y 72 mg de EPA) a la mujer embarazada durante el último trimestre de gestación y el periodo de lactancia puede tener impacto sobre el perfil lipídico de la madre y del recién nacido.







---

#### **4. POBLACIÓN DE ESTUDIO. MATERIAL Y METODOS.**

---





## **4. POBLACIÓN DE ESTUDIO. MATERIAL Y METODOS.**

### **4.1. Población y diseño de estudio.**

#### **4.1.1. Población.**

Grupo de 110 recién nacidos a término sanos, hijos de madres incluidas en un ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos. Los grupos de estudio del ensayo estaban constituidos por un grupo control y un grupo suplementado con DHA. En dicho estudio participaron de forma voluntaria 110 mujeres gestantes controladas en los servicios de Ginecología del Hospital Materno-Infantil de Granada. La inclusión en el estudio se realizó entre Junio del año 2009 y Agosto del 2010. El período de estudio comprendía desde la 28 semanas de gestación hasta el final de la lactancia. Los grupos de estudio del ensayo estaban constituidos por un grupo control y un grupo suplementado con DHA.

El estudio contó con la aprobación del Comité Ético de ensayos clínicos con seres humanos del Hospital Materno-Infantil de Granada. Está registrado en [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) con el código de identificación NCT01947426.

El diseño se realizó cumpliendo la normativa del Real Decreto 223/2004, el Convenio de Oviedo y la Declaración de Helsinki

El Diagrama de flujo para la inscripción de los participantes, seguimiento y abandonos en el periodo de estudio se muestra en la **Figura 8**.

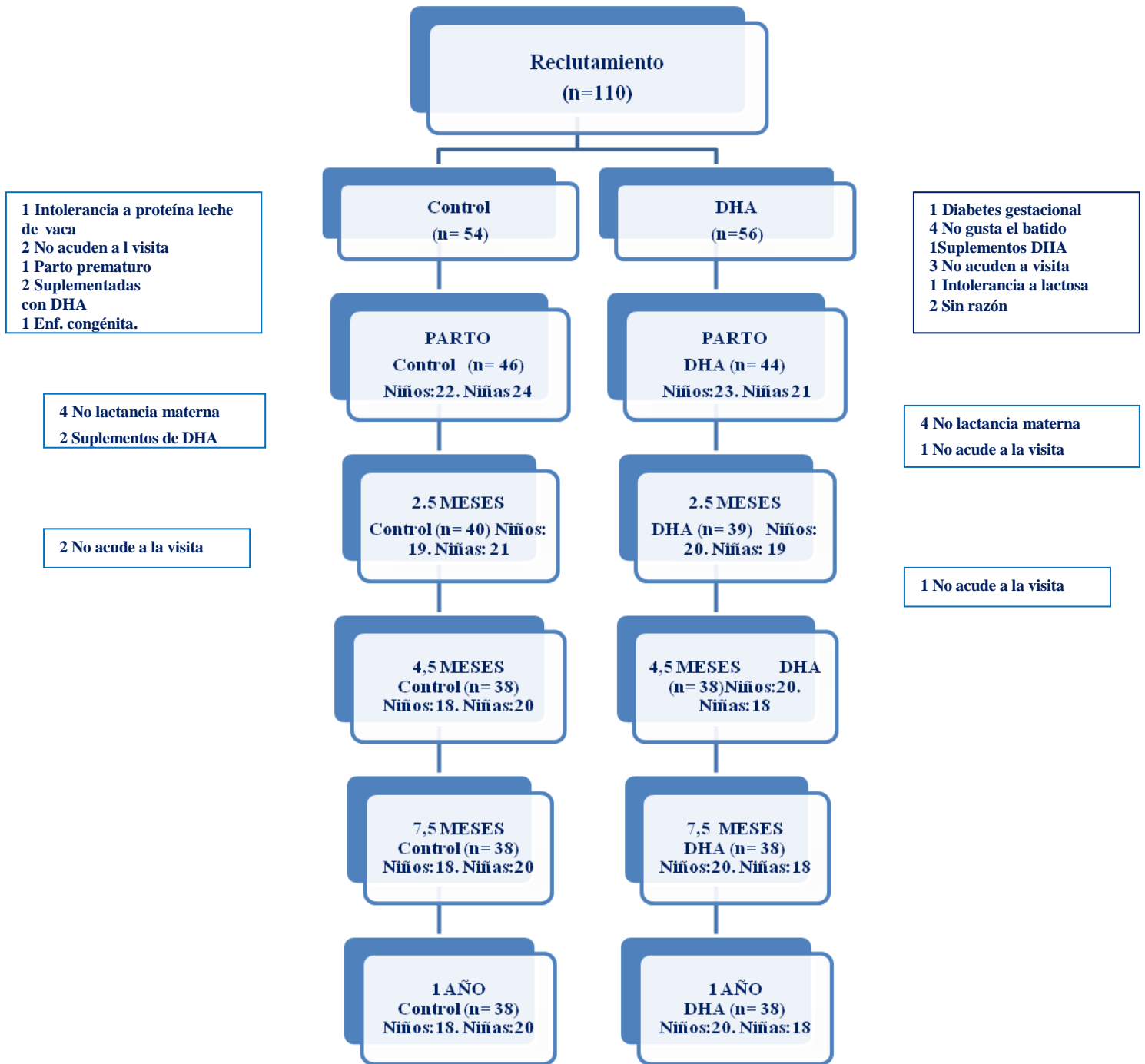


Figura 8. Diagrama de flujo diseño y distribución de la población de estudio.

#### 4.1.1.1. Criterios de participación de las mujeres.

La participación de las voluntarias y de sus hijos se consideró según los siguientes criterios de inclusión y exclusión

### **Criterios de inclusión de las mujeres gestantes.**

Las mujeres gestantes incluidas en el estudio en la semana 28 de gestación cumplían los siguientes criterios:

- Aceptar libremente participar en el estudio y contar con el consentimiento informado firmado por la voluntaria (**ANEXO 1**) El consentimiento informado se obtuvo de cada participante después de una explicación detallada del estudio, y los participantes eran libres de retirarse del estudio en cualquier momento sin ninguna consecuencia para su cuidado.
- Mujer gestante con un embarazo de curso normal y ausencia de enfermedades que pueden afectar el desarrollo normal del embarazo o la lactancia (ausencia de enfermedad sistémica grave y ausencia de enfermedad metabólica (diabetes e hipertensión gestacional).
- Embarazo de un único feto.
- Índice de masa corporal de 18 a 30 kg / m<sup>2</sup> en el inicio del embarazo
- Aumento de peso de 8-12 kg desde el inicio del embarazo
- No ingesta por parte de la embarazada de suplementos de DHA.

### **Criterios de exclusión de las mujeres.**

Los criterios de exclusión para las mujeres fueron los siguientes:

- Factores de riesgo en el embarazo.
- Intolerancia a la lactosa.
- Intolerancia a las proteínas de la leche de vaca.
- Malnutrición.
- Alimentación incorrecta o alternativa.
- Déficits que hicieran necesario el uso de suplementos farmacológicos a partir de la semana 24.
- Embarazos múltiples.
- Diagnóstico de retraso del crecimiento intrauterino.
- Muerte fetal.
- Presencia de circunstancias que a juicio de los investigadores supusieran bajas expectativas de cumplimiento con el protocolo del ensayo.
- No deseo de lactancia materna.

- Toma de suplementos con DHA durante la gestación y/o lactancia.

#### **4.1.1.2. Criterios de participación de los hijos.**

La participación de los hijos se consideró según los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

#### **Criterios de inclusión de los hijos.**

Los criterios de inclusión para los niños fueron los siguientes:

- Recién nacidos a término entre la semana 38 y 42 de gestación.
- Parto espontáneo, eutócico y vaginal.
- Peso adecuado para la edad gestacional.
- Índice de Apgar  $\geq 7$  al primer y quinto minuto de vida.
- Exploración física al nacimiento compatible con la normalidad para su edad gestacional.
- Alimentación del recién nacido con lactancia materna

#### **Criterios de exclusión de los hijos.**

Los criterios de exclusión para los hijos fueron los siguientes:

- Intolerancia a la lactosa.
- Intolerancia a las proteínas de la leche de vaca.
- Enfermedad sistémica grave.
- Existencias de cromosopatías y malformaciones fetales

#### **4.1.2. Diseño de estudio e intervención.**

Las madres fueron asignadas aleatoriamente a uno de los siguientes grupos de intervención:

**Grupo Control (CT) (n=54):** Recibe dieta equilibrada tipo Mediterránea e ingesta de 400 ml/día (en dos tomas de 200 ml) de la bebida láctea control.

**Grupo suplementado (DHA) (n=56):** Recibe dieta equilibrada tipo Mediterránea e ingesta de 400 ml/día (en dos tomas de 200 ml) de la bebida láctea enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie omega-3 que supone un aporte de 320 mg de DHA y 72 mg de EPA diarios.

La **Tabla 2** muestra la información detallada sobre la composición de las bebidas lácteas utilizadas durante la intervención.

**Tabla 2. Composición de los productos lácteos utilizados en el estudio.**

	<b>Producto lácteo DHA-EPA</b>	<b>Producto lácteo control</b>
<b>Energía (kcal-kJ/100 ml)</b>	58-145	58-145
<b>Proteínas (g/100 ml)</b>	3.7	3.7
<b>Carbohidratos (g/100 ml)</b>	6.7	6.7
<b>Grasas (g/100 ml)</b>	1.8	1.8
- Saturadas (g/100 ml)	0.32	0.36
- Monoinsaturadas(g/100 ml)	1.06	1.10
- Poliinsaturadas (g/100 ml)	0.42	0.34
<b>EPA (mg/100ml)</b>	18	---
<b>DHA (mg/100ml)</b>	80	----
<b>Ácido fólico (µg/100 ml)</b>	80	80
<b>Vitamina B12 (µg/100 mL)</b>	0.4	0.4
<b>Vitamina C (mg/100 ml)</b>	9.0	9.0
<b>Vitamina D (µg/100 ml)</b>	0.75	0.75
<b>Vitamina E (mg/100 ml)</b>	1.5	1.5
<b>Calcio (mg/100 ml)</b>	160	160
<b>Hierro (mg/100ml)</b>	2.2	2.2
<b>Yodo (µg/100ml)</b>	23	23



Con respecto al contenido de EPA y DHA, 100 ml de la bebida láctea suplementada con aceite de pescado proporcionan 18 mg de EPA y 80 mg de DHA. Los productos lácteos se distribuyeron en un embalaje blanco idéntico sin ninguna indicación que refleje el tipo de producto que contiene (doble ciego); por lo tanto, los investigadores del ensayo y los participantes no tenían conocimiento de la asignación al tratamiento. Estas bebidas lácteas no son productos comerciales y fueron producidos específicamente para el juicio. La intervención dietética comenzó en la semana 28 del embarazo y concluyó en el cuarto mes de la lactancia.

#### **4.1.2.1. Dieta de la madre.**

La dieta es un factor de confusión importante en este tipo de ensayos. Con el fin de evitar esta confusión, la dieta de la madre fue controlada durante todo el período de intervención. La evaluación nutricional de la madre comenzó con una encuesta nutricional realizada por un especialista en nutrición. La encuesta nutricional que evaluaba la dieta materna consta 110 ítems donde se recogía la frecuencia de consumo de alimentos (FFQ) (185;186), (**ANEXO 2**) incluyendo preguntas específicas sobre el consumo de alimentos, fuentes habituales de DHA tales como pescado azul, (salmón, trucha, caballa, jurel, sardina..). Se realizó así mismo una encuesta alimentaria tipo recordatorio de 72 horas e información sobre alimentación y hábitos sociales de cada gestante (**ANEXO 2**).

Con toda esta información, se diseñó una dieta basada en un sistema de menú para un mes con contenidos alimentarios intercambiables dentro de cada grupo de nutrientes, lo que permitió mantener las preferencias de todas las gestantes y seguir las recomendaciones nutricionales, especialmente aquellas relacionadas con el consumo semanal de pescado o ingesta diaria de EPA + DHA para apoyar el desarrollo del feto (2/3 porciones por semana o 300 mg de EPA + DHA al día) (5,6). Desde un punto de vista ético, esta actuación era importante para asegurar una ingesta de DHA en las mujeres de ambos grupos, ya que es una recomendación hecha por varias instituciones reconocidas de Europa y del resto del mundo (27, 187).

Al mes de iniciada la intervención dietética se realizó una segunda encuesta para verificar el correcto seguimiento de la dieta y consumo de pescado y la correcta ingesta del producto lácteo (**ANEXO 3 y 4**).

Después del parto, una tercera entrevista, con los mismos objetivos que la anterior, además de conocer cualquier incidencia. En esta etapa se intensificó la promoción de la lactancia materna al menos hasta el sexto mes postparto, según recomendaciones habituales.

Con estas nuevas encuestas se pretendió detectar cualquier incidente en el desarrollo del estudio y desarrollar dietas adecuadas a las nuevas necesidades nutricionales de la madre.

Tanto el análisis de la ingesta nutricional y la elaboración de la dieta se realizaron utilizando el software v.1.1.1 Nutriber (FUNIBER, Barcelona, España).

Todas las gestantes recibieron una hoja informativa que recogía los efectos beneficiosos del consumo de pescado y las recomendaciones de varias instituciones reconocidas de Europa y del resto del mundo (27, 187) (**ANEXO 5**).

#### **4.1.3. Muestras del estudio. Recogida y preparación.**

##### **4.1.3.1. Muestras de sangre.**

Las muestras de sangre de las madres (5 ml) se obtuvieron:

- En el momento de la inclusión en el estudio y fueron recogidas en la consulta de la matrona (semana 28 de embarazo) (SMO).
- En el momento del parto (SM1).
- A los 2.5 meses del parto (SM2).
- Al final de la intervención dietética (SM3) (cuatro meses después del parto).

En el momento del parto se obtuvieron las muestras de sangre arteria umbilical (SHAU) y vena umbilical (SHVU)

Las muestras de sangre del niño se obtuvieron a los 2.5 meses de vida (SH1).

En todas las muestras de sangre recogidas se aisló el plasma tras centrifugación a 3000 r.p.m durante 15 minutos en una centrífuga refrigerada Beckman GS-6R (Beckman, Fullerton, CA, EE.UU.)

Las muestras fueron conservadas a -80°C y enviadas al laboratorio debidamente identificadas, preferentemente en hielo seco, para evitar romper la cadena de frío.

En el laboratorio de análisis se procedió a la eliminación de los leucocitos de la muestra por medio de un lavado con tampón isotónico Tris 310imOSM de pH 7.6 y posterior centrifugación a 15000 r.p.m durante 20 minutos a 4°C, eliminándose el sobrenadante y la capa superficial de células por medio de una pipeta Pasteur. Este procedimiento de lavado se repitió dos veces más. Posteriormente, a esta suspensión se le adicionó tampón Tris hipotónico 20imOSM de pH 7.6 en una proporción 1:5. Tras la centrifugación a 15000 r.p.m durante 15 minutos y a 4°C, se obtuvo el citosol en el sobrenadante y se continuó con el lavado del precipitado, que se correspondía con las membranas eritrocitarias. La operación de lavado con tampón hipotónico se repitió tres veces más. Tras el último lavado, las membranas quedaron con una ligera tonalidad rosácea y el sobrenadante procedente de la hemólisis de los eritrocitos totalmente incoloro. Al finalizar el segundo lavado, se procedió al transvase de las membranas a otro tubo con objeto de dejar atrás el coágulo de pseudofibrina que aportaba a las membranas una coloración rojiza. Finalmente las muestras fueron alicuotadas y congeladas a -80°C hasta el momento de ser analizadas

#### **4.1.3.2. Muestras de leche.**

Las muestras de leche materna se tomaron en la consulta del Pediatra intentando siempre que fuese durante las primeras horas de la mañana y del pecho que no se hubiese ofrecido en la última toma. La cronología de la recogida de muestras de

leche materna se resume a continuación:

- Calostro (**LM0**), 2-3 días post-parto.
- Leche madura (**LM1**), 1 mes post-parto.
- Leche madura a los 2,5 (**LM2**) y 4,5 meses (**LM3**) del parto respectivamente.

En la **Figura 9** se recoge el cronograma de recogida de muestras.



**Figura 9 : Cronograma recogida de muestras.**

## 4.2. Análisis de muestras.

### 4.2.1 Análisis de ácidos grasos en plasma, membrana de eritrocitos y leche materna.

#### 4.2.1.1 Ácidos grasos en plasma.

##### Condiciones instrumentales.

El perfil de ácidos grasos del plasma materno y de hijo se determinó por cromatografía de gas líquido (GLC) según lo descrito por Lepage y Roy (188) mediante la cual se puede hacer en un solo paso la metilación y transesterificación de las muestras.

A continuación se muestran las condiciones de análisis optimizadas para la determinación del compuesto en las muestras problema.

**Tabla 3. Parámetros instrumentales para el análisis de ácidos grasos en plasma.**

<b>Fase Estacionaria</b>	Supelco SP <sup>TM</sup> 2380 Fused Silica Capillary Column 60m.x0.25mm.x0.2µm.
<b>Fase Móvil</b>	Helio Purísimo
<b>VINYECCIÓN (µL)</b>	2 µL
<b>CG</b>	
<b>Horno</b>	T <sub>0</sub> = 60 °C (0.5 min) T <sub>1</sub> = 150°C (10°C/min, 5 min) T <sub>2</sub> = 220 °C (2°C/min, 1 min) Duración 50.50 min
<b>Inyector</b>	250 °C (50.50 min)
<b>Flujo</b>	1mL/min.
<b>Gases para Quemar</b>	Aire e Hidrógeno.
<b>Modo de Medida</b>	Áreas
<b>Réplicas</b>	1

### **Preparación de patrones y muestras.**

**Patrones:** El patrón es una mezcla de ácidos grasos que viene preparado comercialmente. Su nombre comercial es el siguiente: FAME Standards Supelco 37 componet FAME Mix.

**Muestras:** Las muestras se pesan de forma precisa en tubos de vidrio. En un tubo de ensayo pyrex se vierten 300  $\mu$ L de plasma humano y se añaden 2 ml de disolución metanol-tolueno 4:1. Se agitan en vortex durante 1 minuto a temperatura ambiente y a continuación se adicionan cuidadosamente y siempre en campana de absorción de gases y con medidas de protección ocular, los 200  $\mu$ l de cloruro de acetilo. Es extremadamente importante, que mientras se esté adicionando dicho compuesto se mantenga la muestra en vigorosa agitación. Tras agitar con vortex durante 1 min a temperatura ambiente se gasea la muestra con nitrógeno o argón para evitar una oxidación de los ácidos grasos. A continuación se ponen dichas muestras en un bloque calefactor durante 1 hora a 100°C. Una vez sacadas de éste, se refrigeran en un baño de hielo hasta perder la temperatura alcanzada anteriormente, y se vierten con especial cuidado 5ml de carbonato potásico al 6 % que tiene por objeto parar la reacción y neutralizarla. A continuación se lleva a cabo una agitación rápida y se centrifuga a 3500 r.p.m. durante 10 minutos con el fin de separar las fases. La fase superior bencénica es retirada con pipeta Pasteur y conservada con la fracción lipídica. Posteriormente se evapora bajo corriente de nitrógeno y los lípidos que quedan en el fondo del tubo son resuspendidos en 50  $\mu$ l de hexano para ser analizados en el cromatógrafo de gases modelo HP-5890 Series II (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA), equipado con un detector de ionización de llama, inyector automático Hewlett Packard 7673A y un integrador Hewlett Packard 3393A. Se emplea una columna SPTM 2330 F.S (Supelco Inc. Bellefonte, Palo Alto, CA, USA) de 60 m de longitud, 32 mm de i.d. y un grosor de 20 mm. El método tiene una duración de 40 minutos y la siguiente rampa de temperatura: 5 minutos a 160°C; 6 °C/min hasta alcanzar los 195°C; 4 °C/min hasta los 220°C; 2 °C/min hasta los 230°C; 12 minutos a 230°C y 14 °C/min hasta 160°C.

Se realizó la determinación cualitativa de los lípidos de membrana, por lo que los resultados han sido expresados como porcentaje (%) del total de ácidos grasos

detectados en el cromatograma (C12, C14, C15, C16, C16:1, C18, C18:1, C18:2, C18:3, C18:6, C20:4, C24:1, EPA (C20: 5 n-3), DPA (C22:5 n-3) y DHA). Cada ácido graso fue identificado mediante comparación con una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos (Sigma, St Louis, MO, Estados Unidos).

#### 4.2.1.2. Ácidos grasos en membrana de eritrocito.

##### Condiciones instrumentales.

El perfil de ácidos grasos de la membrana del eritrocito se determinó por cromatografía de gas líquido (GLC) según lo descrito por Lepage y Roy (188) mediante la cual se puede hacer en un solo paso la metilación y transesterificación de las muestras.

A continuación se muestran las condiciones de análisis optimizadas para la determinación del compuesto en las muestras problema

**Tabla 4. Parámetros instrumentales para el análisis de ácidos grasos en eritrocitos.**

<b>Fase Estacionaria</b>	Supelco SP <sup>TM</sup> 2380 Fused Silica Capillary Column 60m.x0.25mm.x0.2µm.
<b>Fase Móvil</b>	Helio Purísimo
<b>VINYECCIÓN (µL)</b>	1 µL
<b>CG</b>	
<b>Horno</b>	To = 160 °C (0.0 min) T1 = 177°C (20.0°C/min,10min) T2 = 177 °C (1.1°C/min, 1 min) T3 = 195 °C (1.5°C/min, 0 min) T4 = 230 °C (15°C/min, 7 min) Duración 33.18 min
<b>Inyector</b>	250 °C (33.18 min)
<b>Flujo</b>	1mL/min.
<b>Gases para Quemar</b>	Aire e Hidrógeno.

<b>Modo de Medida</b>	Áreas cuya unidad de medida son las cuentas.
<b>Tª Detector.</b>	260°C
<b>Réplicas</b>	1

### **Preparación de patrones y muestras.**

**Patrones:** El patrón es una mezcla de ácidos grasos que viene preparado comercialmente. Su nombre comercial es el siguiente: FAME Standards Supelco 37 componet FAME Mix.

**Estándar Interno:** El patrón comercial utilizado es el metil tricosanoato (C:23 metilado) a una concentración de 1mg/ml. A continuación se realiza una dilución 1/12 para que la concentración final quede a 0.083 mg/ml

**Muestras:** En un tubo de ensayo pyrex se vierten 500 µL de eritrocitos y se añade 1ml de PBS 10x. Se somete a continua agitación. Posteriormente se centrifuga durante 10min a 6000 r.p.m. y se elimina la fracción hemoglobínica (sobrenadante) evitando arrastrar el pelet de las membranas de los eritrocitos. Se añaden 200µL de C:23 a una concentración de 0,083mg/ml. Se agita suavemente y se añaden 2 ml de disolución metanol-tolueno 2:1. Agitación en vortex durante 1 minuto a temperatura ambiente y a continuación se añaden 200 µl de cloruro de acetilo. Es extremadamente importante, que mientras se esté adicionando dicho compuesto se mantenga la muestra en vigorosa agitación. Tras agitar con vortex durante 1 min a temperatura ambiente se gasea la muestra con nitrógeno o argón para evitar una oxidación de los ácidos grasos. A continuación se ponen dichas muestras en un bloque calefactor durante 1 hora a 100°C. Una vez sacadas de éste se refrigeran en un baño de hielo hasta perder la temperatura alcanzada anteriormente, y se vierten con especial cuidado 5mL de carbonato potásico al 6 %. A continuación se lleva a cabo una agitación rápida y se centrifuga a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. Se recoge con una pipeta Pasteur el sobrenadante obtenido (tolueno) y se lleva a sequedad total con ayuda del speed vac. A



continuación se resuspende el extracto seco obtenido en 50µL de tolueno. Se agita y se vierte al vial con inserto cromatográfico. Por último se inyecta 1µl en el cromatógrafo de gases con detector FID.

Los resultados se expresan a una concentración µg/µL tras haberse calculado mediante la fórmula (señal (cuentas) de la muestra/ señal (cuentas) del SI) x concentración SI. La señal se obtendrá habiendo realizado una correcta integración de los picos anteriormente.

#### 4.2.1.3. Ácidos grasos en leche materna.

El perfil de ácidos grasos de la leche materna se determinó por cromatografía de gas líquido (GLC) según lo descrito por Lepage y Roy (1988) mediante la cual se puede hacer en un solo paso la metilación y transesterificación de las muestras.

A continuación se muestran las condiciones de análisis optimizadas para la determinación del compuesto en las muestras problema:

**Tabla 5. Parámetros instrumentales para el análisis de ácidos grasos en leche materna.**

<b>Fase Estacionaria</b>	Supelco SPTM 2380 Fused Silica Capillary Column 60m.x0.25mm.x0.2µm.
<b>Fase Móvil</b>	Helio Purísimo
<b>VINYECCIÓN (µL)</b>	1 µL
<b>CG</b>	
<b>Horno</b>	To = 62 °C (0.5 min) T1 = 150°C (15.5°C/min, 5 min) T2 = 177 °C (1.1°C/min, 1.5 min) T3 = 195 °C (1.5°C/min, 0 min) T4 = 230 °C (15°C/min, 7 min) Duración 50.50 min

<b>Inyector</b>	250 °C (33.18 min)
<b>Flujo</b>	1mL/min.
<b>Gases para Quemar</b>	Aire e Hidrógeno.
<b>Modo de Medida</b>	Áreas
<b>Tª Detector.</b>	260°C
<b>Réplicas</b>	1

### Preparación de patrones y muestras.

**Patrones:** El patrón es una mezcla de ácidos grasos que viene preparado comercialmente. Su nombre comercial es el siguiente: FAME Standards Supelco 37 componet FAME Mix.

**Estándar Interno:** El patrón comercial utilizado es el metil tricosanoato (C:23 metilado) a una concentración de 1mg/ml. A continuación se realiza una dilución 1/10 para que la concentración final quede a 0.1mg/ml.

**Muestras:** En un tubo de ensayo pyrex se vierten 300 µL de leche humana y se añaden 200µL de C:23 a una concentración de 0.1mg/ml. Se agita suavemente y se añaden 2 ml de disolución metanol-tolueno 4:1. Se vuelve a agitar en vortex durante 1 minuto a temperatura ambiente y a continuación se adicionan cuidadosamente y siempre en campana de absorción de gases y con medidas de protección ocular, los 200 µl de cloruro de acetilo. Es extremadamente importante, que mientras se esté adicionando dicho compuesto se mantenga la muestra en vigorosa agitación. Tras agitar con vortex durante 1 min a temperatura ambiente se gasea la muestra con nitrógeno o argón para evitar una oxidación de los ácidos grasos. A continuación se ponen dichas muestras en un bloque calefactor durante 1 hora a 100°C. Una vez sacadas de éste se refrigeran en un baño de hielo hasta perder la temperatura alcanzada anteriormente, y se vierten con especial cuidado 5ml de carbonato potásico al 6 %. A continuación se lleva a cabo una agitación rápida y se centrifuga

a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. Se recoge con una pipeta Pasteur el sobrenadante obtenido (tolueno) y se lleva a sequedad total con ayuda del speed vac. A continuación se resuspende el extracto seco obtenido en 300µL de tolueno. Se agita y se vierte al vial con inserto cromatográfico. Por último se inyecta 1µl en el cromatógrafo de gases con detector FID.

Los resultados se expresan a una concentración µg/µL tras haberse calculado mediante la fórmula (señal (cuentas) de la muestra/ señal (cuentas) del SI) x concentración SI. La señal se obtendrá habiendo realizado una correcta integración de los picos anteriormente

### **4.3. Potenciales evocados visuales.**

Se realizaron PEV en 79 niños sanos a 2,5 meses (40 del grupo control y 39 del grupo suplementado) y en 76 lactantes en 7,5 meses (38 del grupo control y 38 del grupo suplementado). Los PEV se registraron en una habitación tranquila en condiciones escotópicas mientras el niño se encontraba despierto y alerta. El niño se sentaba en los brazos del padre o madre a la altura de la pantalla de estimulación. El horario de la prueba se encontraba próximo a la siguiente toma. Se evitaron los factores que pudieran dificultar la exploración (llanto, sueño, incomodidad, frío...).

Durante la exploración participaron dos exploradores. Uno controlaba el aparato y el otro (colocado detrás de la pantalla de estimulación y mirando al niño) controlaba la fijación del niño en la pantalla (mediante la observación del reflejo del damero en la pupila del lactante). Para facilitar la fijación del niño en la pantalla se le daba un biberón de manzanilla mientras se hacía la exploración, también se emitían sonidos detrás de la pantalla para atraer su atención (todo ello si resultaba necesario). Si el niño no mantenía la fijación, el registro se detenía y sólo continuaba cuando retornaba la ésta. Si existía somnolencia se dejaba al niño dormir una siesta mientras se exploraba al siguiente niño.

### 4.3.1. Descripción de la técnica.

#### 4.3.1.1 Estímulo.

Se presentó estímulo de tipo damero alternante en un estimulador visual de 17 pulgadas (marca Hanns-G –JC171D-). El contraste entre los cuadros blancos y negros en el damero fue del 100% y la luminancia media de la pantalla osciló entre 80 y 100 candelas/m<sup>2</sup>. Durante el experimento la distancia de la pantalla al niño fue de 80 cm y la frecuencia de estimulación fue de 2 ciclos/segundo. Se presentaron patrones con disminución progresiva del ángulo de estimulación visual. En primer lugar se realizó la exploración binocular con damero, que comenzó registrando la respuesta cortical con un ángulo de estimulación visual de 2° para continuar con 1°, 30', 15' y 7.5' de arco. El mismo método se siguió para la exploración de cada ojo por separado.



**Figura 10. Realización de PEV en niño del estudio. Estímulo con damero.**

#### 4.3.1.2 Registro.

Se registraron PEV mediante estimulación binocular con damero a 54 lactantes sanos a los 2 meses y medio y a 48 lactantes a los 7 meses y medio. Asimismo, se registraron PEV mediante estimulación monocular para ambos ojos. Durante la exploración monocular el ojo no explorado se ocluyó con un parche oftálmico. Para el registro de los PEV se utilizó un gorro pediátrico de la casa *Electro-Cap International* de tamaños diferentes a los 2 y 7 meses (38-42 y 42-46 cm respectivamente), que cumple con la norma para la colocación de electrodos según el Sistema Internacional

10-20 modificado para su utilización en lactantes (American Electroencephalographic Society, 1994). Los electrodos utilizados han sido Fz como referencia y O1, Oz y O2 activos (Oz sobre el inion, O1 en el mismo plano 3 cm a la izquierda que corresponde a O3 según la ISCEV y O2 en el mismo plano 3 cm a la derecha que corresponde a O4 según la ISCEV) y Cz actuó como electrodo de tierra (189).



**Figura 11. Registro de los PEV con gorro pediátrico.**

Los PEV se registraron utilizando un amplificador con 3 canales (O1-Fz, Oz-Fz y O2-Fz). La señal se filtró con una banda de 1 a 100 Hz y una ganancia de 20-50 microvoltios/división siendo procesada para su almacenamiento digital y análisis. El filtro de red se encontraba conectado, el tiempo de análisis fue de 500 milisegundos y el rechazo de artefactos se hizo de forma manual. La impedancia de los diferentes electrodos se dio como correcta cuando se encontraba por debajo de 5 kilohmios. Equipo de registro de la casa comercial Keypoint.

Se promediaron 30 respuestas con cada uno de los ángulos de exploración y la exploración se dio por finalizada cuando la amplitud de la respuesta era inferior a 3 microvoltios, o bien cuando se observaba un déficit de fijación en la pantalla por disminución de la atención del niño (llanto o somnolencia), a pesar de haberlo dejado dormir una siesta mientras se exploraba otro niño.

Las latencias se determinaron en milisegundos y la amplitud en microvoltios. Los componentes analizados de las respuestas fueron N1 (inicio de la deflexión positiva), P1 (punto más extremo de la deflexión positiva) y N2 (final de la deflexión positiva). Asimismo, se determinó la amplitud entre los componentes N1 -P1 y P1-N2, siendo considerada siempre que fuera superior a 3 microvoltios

#### **4.4. Test de Neurodesarrollo. Escala de Neurodesarrollo Bayley.**

Se realizó la Escala Bayley (Segunda Edición (BSID-II) en 76 niños sanos a los 12 meses (38 niños del grupo control y 38 niños del grupo suplementado). Las puntuaciones de IDM e IDP se estandarizaron a una media de 100 con una desviación estándar de 15 (rango, de 50-150). .

El test de neurodesarrollo fue realizado por pediatra entrenado en la técnica. Todos los test fueron desarrollados por la misma persona y con el mismo material, siguiendo procedimiento establecido.

El lugar fue siempre el mismo, en pequeña sala, no incluida en zona de hospitalización y con la presencia de uno solo de los progenitores.

La fecha para la realización del test se concertó coincidiendo con los 12 meses de edad cronológica del niños  $\pm$  2 semanas. Fueron motivos para suspender la realización del test, que el niño estuviera cursando cualquier patología intercurrente, que la cita para la realización del test coincidiera con otra visita médica de cualquier naturaleza.

El pediatra, encargado de la realización del test fue el encargado de realizar las visitas pediátricas durante todo el periodo de estudio.

Los ítems fueron recogidos secuencialmente en las Hojas de registro diseñadas para la Escala (**ANEXOS 6,7 y 8**). Se evaluó en primer lugar el Índice de Desarrollo Mental y a continuación el Índice de Desarrollo Psicomotor. Concluidos ambos el pediatra completó la Hoja de Registro de Conducta.

Para la realización del test se dispone de unas hojas de anotación las que en primer lugar se encuentra el número del elemento que se está evaluando.

Después, se encuentra la edad de referencia, es decir, la edad en la que el 50% de la muestra ha superado ese elemento. Los límites se presentan entre paréntesis, siendo el primer número la edad en la que el 5% de los niños lo ha superado y, el segundo, la edad en la que el 95% de los niños lo ha realizado correctamente. Se presentan los ítems agrupados en códigos de situación para facilitar su aplicación.

Se señalan así mismo una serie de letras que representan una conducta ante una situación-estímulo.

Para la realización del test se consideró que el evaluador reunía una serie de requisitos, como son:

- Conocimiento de la escala. Experiencia en la realización de test.
- Capacidad de relación simultánea con la madre y el niño.
- Actitud tranquilizadora. Preparación adecuada de la sala.
- Selección de los materiales en función de edad/características.
- Tener disponibles las hojas del test.

Se procuró concertar con la madre la cita de manera que coincidiera con un momento en que el niño estuviese descansado y tranquilo antes del test, favoreciendo la empatía y el precalentamiento ofreciéndole algunos juguetes (distintos al material de la prueba).

Se consideró igualmente que, si el niño necesitaba alimentarse o asearse, se interrumpir la prueba. Una prueba que tiene que realizarse siguiendo un ritmo continuado y sin apresurar al niño, del que se debe observar su conducta ya que también es puntuable. El test recogió y registró, cualquier conducta observable durante la aplicación de la escala.

Se adaptó el orden de presentación a la predisposición de respuesta del niño y proporcionando los periodos de descanso necesarios. En todos los casos se inició con la Escala de Desarrollo Mental

#### **4.4.1. Descripción del procedimiento.**

El test comenzó tomando como edad de referencia al menos un mes antes de la edad cronológica del niño, de esta manera se aseguró que el principio iba a ser realizado correctamente.

Se estableció como nivel básico (ítem preferente), el término que precede al primer fallo después de varios logros conseguidos, y se consideró como techo del niño, el último ítem conseguido antes de obtener 10 elementos fallidos en la escala mental, y 6 elementos fallidos en el caso de la escala de psicomotricidad. En el manual se especifica el número del elemento (ítem de referencia), la edad de referencia, la categoría y la descripción de la conducta esperable.

Cada ítem recibió una de las siguientes puntuaciones:

- “P”: Pasa.
- “F”: Falla.
- “Omisión”. (El examinador omite el ítem).
- “IM”. La madre informa que el niño pasa el ítem pero no pudo observarse.

#### **4.4.2. Puntuación de la prueba.**

Se obtuvo la puntuación directa de cada escala (número total de elementos superados + número de elementos por debajo del nivel básico).

Se calculó la edad del niño en meses y días.

Fecha de aplicación – Fecha de nacimiento.

En la corrección se atendió a la edad exacta del niño, para lo cual se restó la fecha



de nacimiento a la fecha de aplicación de la prueba. Se obtuvo una puntuación directa sumando todos los ítems superados, incluso los de un nivel anterior, en la escala mental y en la de psicomotricidad. Después, la puntuación directa se traslada a un índice de desarrollo a través de la tabla de baremos. En el caso de que en la realización de la escala hubiera más de tres elementos no realizados, rehusados o con interferencia materna, se establecía que se estaba ante resultados inferiores a las capacidades del niño.

Finalmente Las puntuaciones de IDM y de IDP se estandarizaron a una media de 100 con una desviación estándar de 15. (ANEXOS 9.1 y 9.2)

#### **4.5. Análisis estadístico.**

Antes del análisis estadístico, se revisaron todas las variables de normalidad y varianza homogénea mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnoff y las pruebas de Levene, respectivamente.

Para comparar las posibles diferencias en las variables estudiadas entre los grupos DHA y control, se ha realizado un análisis bivalente. Para las variables numéricas se ha utilizado el test t de Student para muestras independientes, o Mann-Whitney en los casos de no normalidad. Para las variables cualitativas se empleó el test chi-cuadrado de Pearson o Fisher en los casos en los que no se cumplieron las condiciones de aplicabilidad.

El mismo análisis se ha llevado a cabo para determinar diferencias entre los niveles de DHA por sexo, así como los índices de desarrollo motor y psicológico por grupos.

La evolución de los distintos ácidos grasos en el tiempo se ha analizado con el test t de Student para muestras relacionadas, y en cada punto por separado entre casos y controles con t de Student para muestras independientes. En los casos en que no se cumplió la normalidad, se utilizó el test de Friedman para muestras relacionadas y Mann-Whitney para muestras independientes.

La relación entre los ácidos grasos y los índices IDP e IDM se ha medido con el coeficiente de correlación de Pearson; Spearman en los casos de no normalidad.

Para contrastar las diferencias entre casos y controles en cuanto a las distintas medidas de latencia y amplitud, se ha utilizado el test t de Student y Mann-Whitney. De igual modo para las diferencias por sexo.

La correlación entre el perímetro craneal y los promedios de latencia y amplitud se calculó con el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman, según normalidad.

Igual para la relación entre la latencia y amplitud con los distintos ácidos.

Para todos los contrastes se ha considerado un nivel de significación  $p < 0.05$ . Los datos se han analizado con el software IBM SPSS Statistics 19.





---

## **5. RESULTADOS.**

---

---



## 5. RESULTADOS

### 5.1. Características poblacionales de madres e hijos.

Se valoraron las características antropométricas de las gestantes incluidas en el estudio, (**tabla 6**), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad, peso, talla, tensión arterial y parámetros bioquímicos tales como perfil lipídico y glucemia en el momento de su inclusión en el estudio.

**Tabla 6. Características de las mujeres en el momento de su inclusión en el estudio.**

	Grupo	N	Media	Desviación típica.	P
Semana de gestación de captación	A	56	24,443	1,220	0.132
	B	54	24,754	1,215	
Peso de la madre (kg)	A	56	72,303	12,766	0.886
	B	54	72,008	12,210	
Talla de la madre (cm)	A	56	163,209	6,356	0.953
	B	54	163,270	6,259	
Índice de Masa Corporal de la madre (kg/m <sup>2</sup> )	A	56	9,535	13,417	0.760
	B	54	8,867	13,145	
Edad de la madre (años)	A	56	30,290	4,990	0.817
	B	54	30,490	5,397	
Incremento de peso durante el embarazo (kg)	A	56	6,767	2,959	0.726
	B	54	6,952	2,859	
Presión Sistólica de la madre (mmHg)	A	56	109,992	12,843	0.170
	B	54	107,172	8,921	
Presión Diastólica de la madre (mmHg)	A	56	65,850	8,256	0.273
	B	54	64,310	6,847	
Hemoglobina en la madre (g/dl)	A	56	11,716	0,986	0.486
	B	54	11,849	0,799	
Hematocrito en la madre (%)	A	56	34,439	2,486	0.985
	B	54	34,429	2,516	
Glucosa en la madre (mg/dl)	A	56	101,222	29,248	0.846
	B	54	102,522	34,040	
Colesterol en la madre (mg/dl)	A	56	257,275	39,201	0.638
	B	54	253,174	41,095	
Triglicéridos en la madre (mg/dl)	A	56	169,219	72,532	0.363
	B	54	157,739	42,165	

Los datos al nacimiento, edad gestacional y la puntuación del Apgar en el recién nacido así como la somatometría de los recién nacidos no mostraron diferencias, siendo el



peso, la talla y el perímetro craneal similares en ambos grupos (**tabla 7**).

**Tabla 7. Datos del parto y somatometría al nacimiento.**

	Grupo	N	Media	Desviación típica.	p
Semana de parto	A	44	39,449	1,659	0.512
	B	46	39,224	1,863	
Apgar 1 del recién nacido	A	44	8,521	0,922	0.289
	B	46	8,702	0,719	
Apgar 5 del recién nacido	A	44	9,021	0,564	0.329
	B	46	9,128	0,494	
Peso del recién nacido (kg)	A	44	3,146	0,491	0.389
	B	46	3,230	0,531	
Talla del recién nacido (cm)	A	44	50,135	2,869	0.978
	B	46	50,120	2,380	
Perímetro craneal (cm)	A	44	34,205	1,360	0.284
	B	46	33,847	1,546	

**Tabla 8. Evolución de datos de somatometría en el periodo de estudio**

	Grupo	N	Media	Desviación típica.	p
Peso al primer mes de vida (kg)	A	44	4,152	0,630	0.409
	B	46	4,267	0,742	
Talla al primer mes de vida (cm)	A	44	54,259	2,518	0.576
	B	46	54,558	2,796	
Perímetro craneal al primer mes de vida (cm)	A	44	37,270	1,308	0,599
	B	46	37,112	1,659	
Peso a los 2,5 meses de vida (kg)	A	39	5,530	0,753	0,472
	B	40	5,667	0,971	
Talla a los 2,5 meses de vida (kg)	A	39	59,261	2,641	0,393
	B	40	59,858	3,603	
Perímetro craneal a los 2,5 meses de vida (cm)	A	39	39,945	1,980	0,178
	B	40	39,395	1,725	
Peso a los 4 meses de vida (kg)	A	39	6,951	0,972	0,725
	B	40	6,877	0,864	
Talla a los 4 meses de vida (cm)	A	39	64,216	2,549	0,349
	B	40	64,785	2,743	
Perímetro craneal a los 4 meses de vida (cm)	A	39	41,855	1,346	0,433
	B	40	41,545	2,00344	
Peso a los 7,5 meses de vida (kg)	A	38	8,505	1,116	0,612
	B	38	8,351	1,156	
Talla a los 7,5 meses de vida (cm)	A	38	70,559	2,700	0,307
	B	38	69,816	2,724	

Perímetro craneal a los 7,5 meses de vida (cm)	A	38	44,235	1,301	0,443
	B	38	43,923	1,735	
Peso al año de vida (kg)	A	38	9,839	1,089	0,360
	B	38	9,564	1,152	
Talla al año de vida (cm)	A	38	75,615	2,458	0,362
	B	38	74,983	2,653	
Perímetro craneal al año de vida (cm)	A	38	46,111	1,305	0,221
	B	38	45,6100	1,73828	

En el seguimiento realizado a lo largo del primer año de vida de los niños no se detectaron diferencias significativas en cuanto a las variaciones de peso, talla y perímetro craneal entre grupos, siendo el crecimiento lineal y similar en ambos (tabla 8).

Todos estos datos confirman la homogeneidad inicial entre ambos grupos.

## 5.2. Ácidos grasos en plasma materno.

Se determinaron niveles de los distintos ácidos grasos en plasma materno.

Se obtuvieron cuatro muestras de las gestantes a lo largo del ensayo, en el reclutamiento (SM0), al nacimiento (SM1), dos meses y medio después del parto (SM2) y al final de la intervención dietética a los cuatro meses y medio de vida del lactante (SM3).

Significa un periodo de seguimiento de siete meses aproximadamente.

Como era de esperar, al inicio del reclutamiento no se encuentran diferencias significativas para ninguno de los ácidos grasos analizados en plasma materno entre los dos grupos. Detectamos niveles similares en ambos grupos lo que manifiesta la homogeneidad entre ellos.

Los niveles de ácidos grasos insaturados disminuyen en los últimos meses de embarazo, siendo más bajos en ambos grupos en el momento del parto. En los meses de lactancia estos niveles aumentan paulatinamente.

En la muestra obtenida durante el parto se aprecia que las concentraciones de ácido Nervónico, y DHA son más elevadas en el grupo suplementado, de modo estadísticamente significativo.

Asímismo, en las muestras obtenidas a los dos meses y medio del nacimiento, se encontró diferencia con significación estadística entre ambos grupos, puesto que la elevación de EPA y DHA fundamentalmente persiste e incluso aumenta en el grupo suplementado ( $p < 0,01$ ).

Del mismo modo, en las muestras obtenidas al final de la intervención, a los cuatro meses y medio, se comprueba cómo los niveles plasmáticos de EPA ( $p < 0,01$ ) y de DHA ( $p < 0,042$ ), se mantienen elevados en el grupo suplementado. El resto de ácidos grasos no muestran diferencias significativas entre ambos grupos.

Por todo ello, lo más llamativo en cuanto a los niveles plasmáticos maternos de ácidos grasos y su evolución durante la intervención, se podría considerar:

- Los niveles de EPA se incrementan en los dos grupos a lo largo de la intervención. Este aumento es más llamativo en el grupo suplementado, de manera estadísticamente significativa.
- El nivel de DHA se mantiene relativamente estable a lo largo de la intervención en el grupo suplementado. En el grupo no suplementado disminuye paulatinamente con significación estadística.

**Tabla 9. Perfil de los ácidos grasos en plasma materno (Resultados expresados % del total de Ac. Grasos. Medias  $\pm$  desviación estándar).**

ÁCIDO	MUESTRA	CONTROL	DHA	p
Ácido Araquidónico (ARA) C20:4n-6	SMO	8,841 $\pm$ 2,120	8,359 $\pm$ 2,041	1
	SM1	6,320 $\pm$ 2,320	6,340 $\pm$ 3,200	0,697
	SM2	9,250 $\pm$ 3,020	7,900 $\pm$ 2,064	0,053
	SM3	9,390 $\pm$ 2,290	8,680 $\pm$ 2,035	0,666
Ácido Nervónico C24:1n-9	SMO	2,252 $\pm$ 0,910	2,723 $\pm$ 2,430	1
	SM1	1,043 $\pm$ 0,434*	1,542 $\pm$ 1,071	0,033
	SM2	2,042 $\pm$ 1,231	2,032 $\pm$ 1,151	0,787
	SM3	2,390 $\pm$ 1,191	2,350 $\pm$ 1,243	0,811
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) C20:5n-3	SMO	0,500 $\pm$ 0,331	0,451 $\pm$ 0,281	1
	SM1	0,511 $\pm$ 0,482	0,551 $\pm$ 0,341	0,667
	SM2	1,001 $\pm$ 0,700*	1,371 $\pm$ 0,590	0,001
	SM3	0,720 $\pm$ 0,320*	1,051 $\pm$ 0,671	0,001
Ácido Docosahexaenoico (DHA) C22:6n-3	SMO	3,570 $\pm$ 1,521	3,641 $\pm$ 1,293	1
	SM1	2,432 $\pm$ 0,932*	3,430 $\pm$ 1,442	0,023
	SM2	2,632 $\pm$ 1,562*	3,710 $\pm$ 1,156	0,001
	SM3	2,831 $\pm$ 1,421*	3,692 $\pm$ 1,431	0,004

SMO: Plasma materno a los seis meses de gestación (captación). SM1: Plasma materno en el

momento del parto. SM2: Plasma materno a los 2,5 meses del parto. SM3: Plasma materno a los 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$

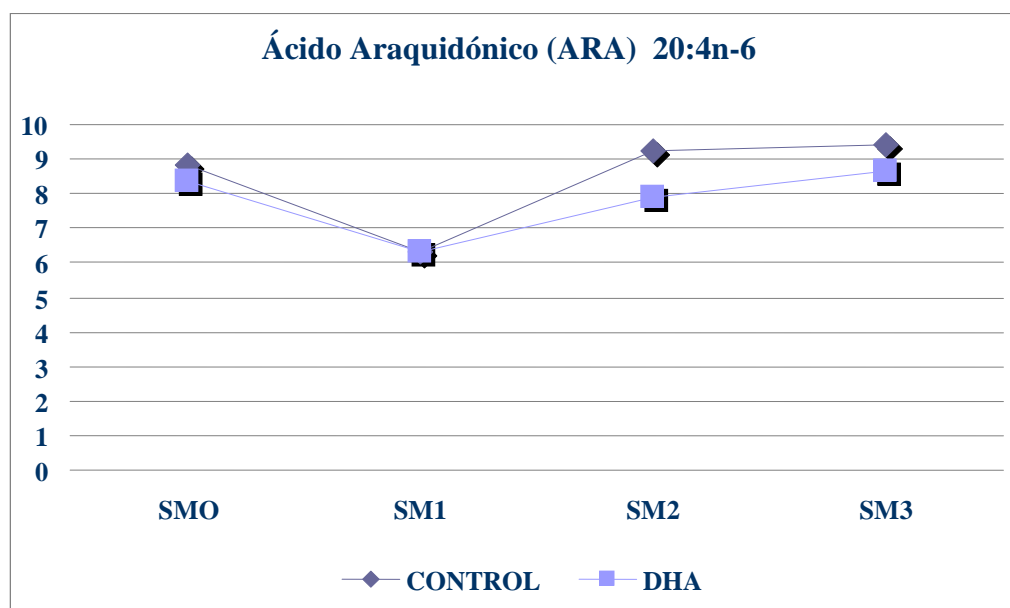


Figura 12a. Contenido de ARA en plasma materno.

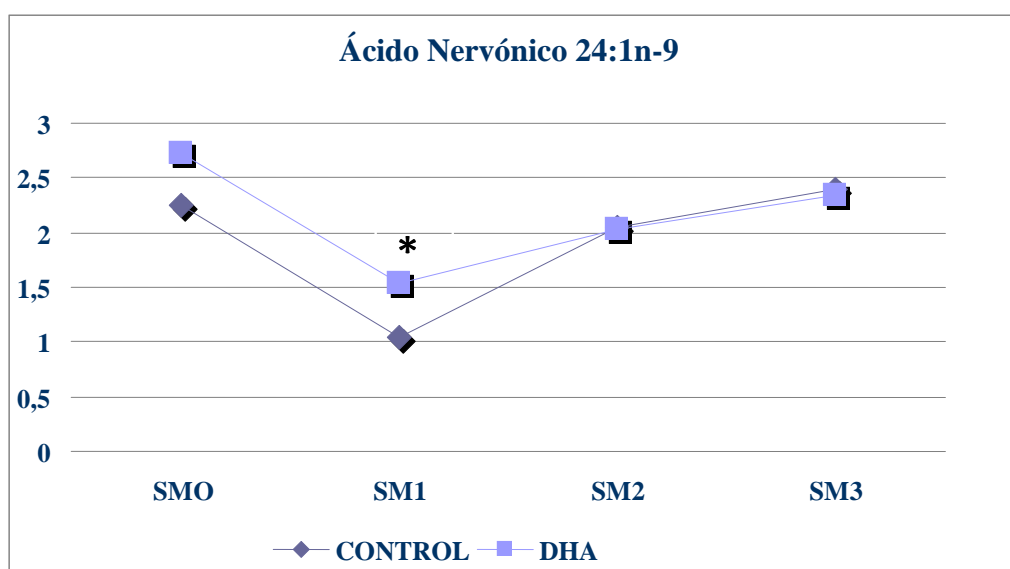


Figura 12b. Contenido de Ácido Nervónico en plasma materno

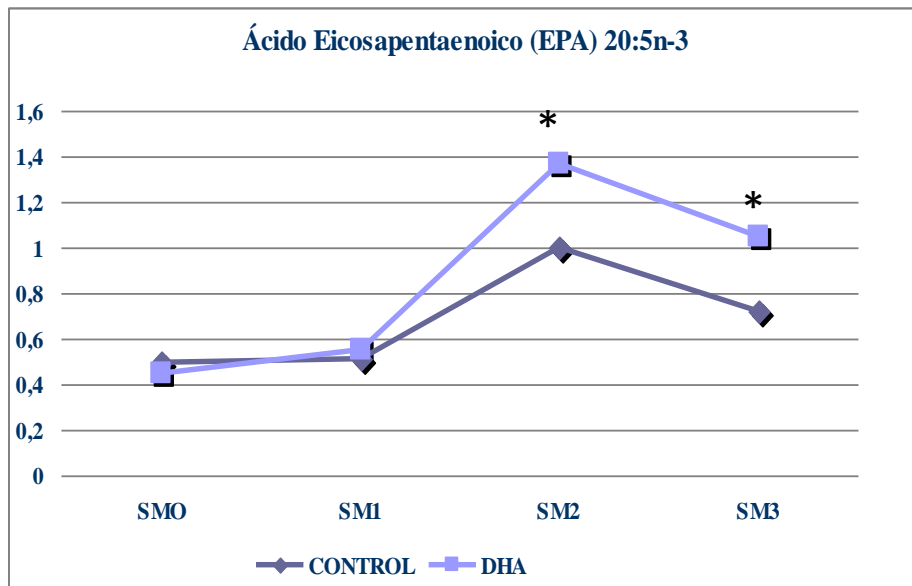


Figura 12c. Contenido de EPA en plasma materno

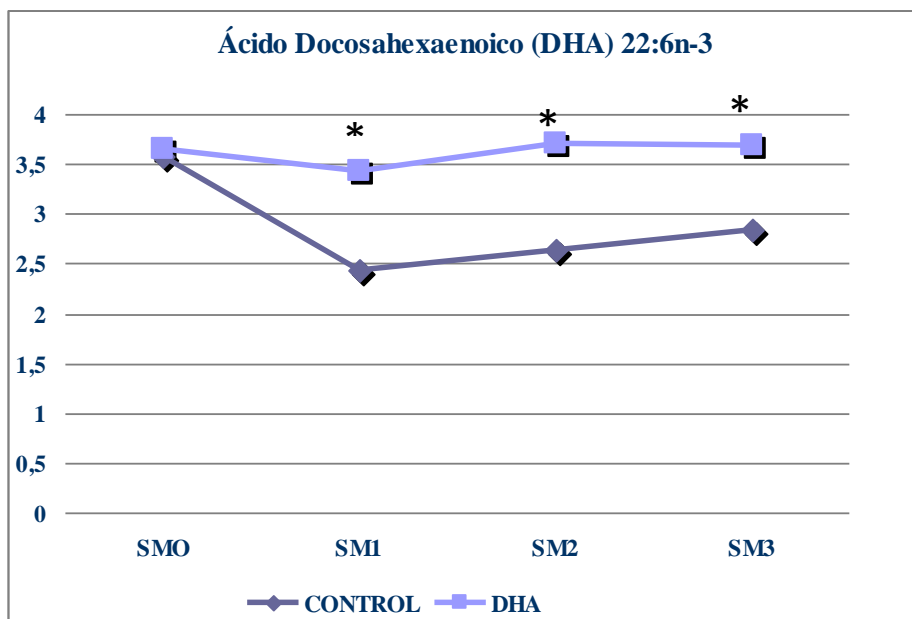


Figura 12d. Contenido de DHA en plasma materno

### 5.3. Ácidos grasos en membrana de eritrocitos materno

Se determinaron niveles de los distintos ácidos grasos en la membrana de eritrocitos de sangre materna.

Se obtuvieron cuatro muestras de las gestantes a los largo del ensayo, en el reclutamiento, al nacimiento, dos meses y medio después del parto y al final de la intervención a los cuatro meses y medio de vida del lactante.

Significa un periodo de seguimiento de siete meses aproximadamente.

Como era de esperar, al inicio del reclutamiento, no se encuentran diferencias significativas para ninguno de los ácidos grasos analizados en la membrana de los eritrocitos de sangre materna entre los dos grupos. Se observan niveles similares en ambos grupos.

En las muestras obtenidas durante el parto se aprecia que las concentraciones de los distintos ácidos grasos disminuyen a lo largo del último trimestre del embarazo. Tanto los niveles de DHA como los de ácido Nervónico fueron más bajos en el grupo control de modo estadísticamente significativo

En las muestras obtenidas a los dos meses y medio del nacimiento, el EPA y el DHA están más elevados en el grupo de intervención de modo significativo. Estas diferencias persisten en la última muestra tomada a los cuatro meses y medio, donde también el ácido Nervónico vuelve a ser significativamente más alto en el grupo de intervención.

**Tabla 10. Perfil de los ácidos grasos en membrana de eritrocito materno. (Resultados expresados % del total de Ac. Grasos. Medias  $\pm$  desviación estándar)**

ÁCIDO	MUESTRA	CONTROL	DHA	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	MER0	12,671 $\pm$ 2,28	12,371 $\pm$ 1,489	1
	MER1	8,551 $\pm$ 4,75	8,882 $\pm$ 3,557	0,930
	MER2	14,390 $\pm$ 1,792	13,132 $\pm$ 2,131	0,601
	MER3	16,381 $\pm$ 2,001	14,912 $\pm$ 2,767	0,155
Ácido Nervónico 24:1n-9	MER0	7,721 $\pm$ 1,770	7,623 $\pm$ 1,411	1
	MER1	6,330 $\pm$ 1,531*	7,020 $\pm$ 1,510	0,037
	MER2	4,223 $\pm$ 0,721	4,244 $\pm$ 0,582	0,754
	MER3	4,821 $\pm$ 1,351*	5,688 $\pm$ 1,741	0,041
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	MER0	1,222 $\pm$ 1,071	1,422 $\pm$ 1,021	1
	MER1	0,261 $\pm$ 0,110	0,551 $\pm$ 0,510	0,139
	MER2	0,482 $\pm$ 0,341*	0,871 $\pm$ 0,400	0,048
	MER3	0,541 $\pm$ 0,351*	0,820 $\pm$ 0,431	0,037

<b>Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3</b>	<b>MER0</b>	4,480±1,281	4,772±0,771	1
	<b>MER1</b>	2,741±2,091*	3,751±1,980	0,048
	<b>MER2</b>	3,980±1,251*	5,040±1,141	0,010
	<b>MER3</b>	4,041±1,410*	5,141±1,290	0,007

MER0: Membrana de eritrocito sangre materna a los seis meses de gestación (captación).MER1:Membrana de eritrocito sangre materna en el momento del parto.MER2:Membrana de eritrocito sangre materna a los 2,5 meses del parto.MER3: Membrana de eritrocito sangre materna 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p<0,05$ .

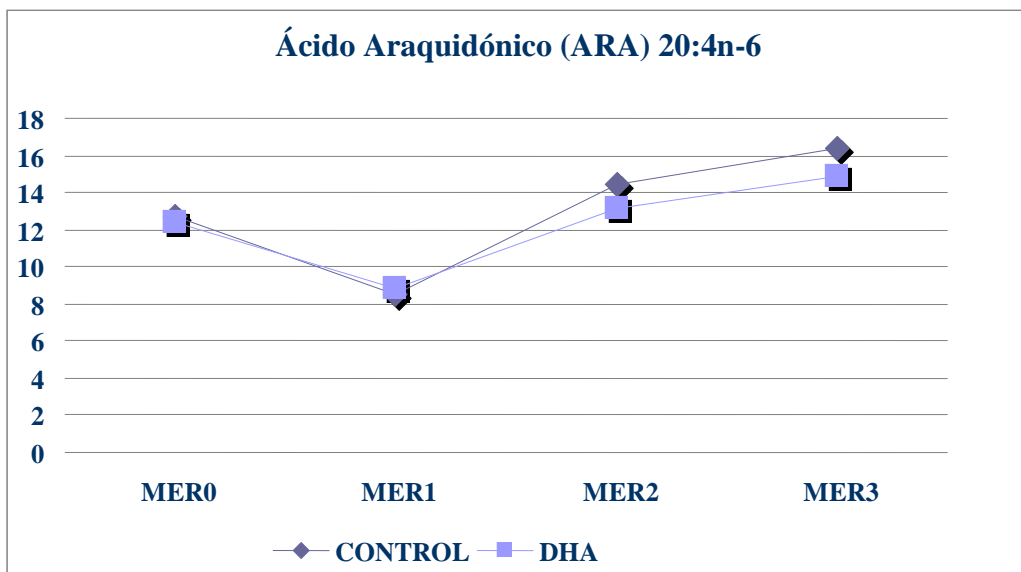


Figura 13a . Contenido de ARA en membrana de eritrocito materno.

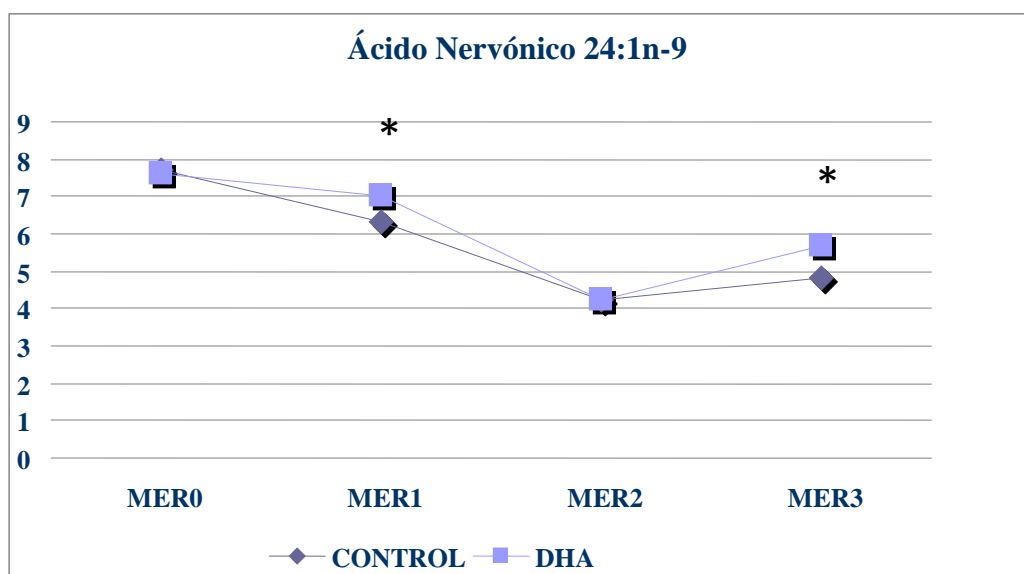


Figura 13b . Contenido de Acido Nervónico en membrana de eritrocito materno.

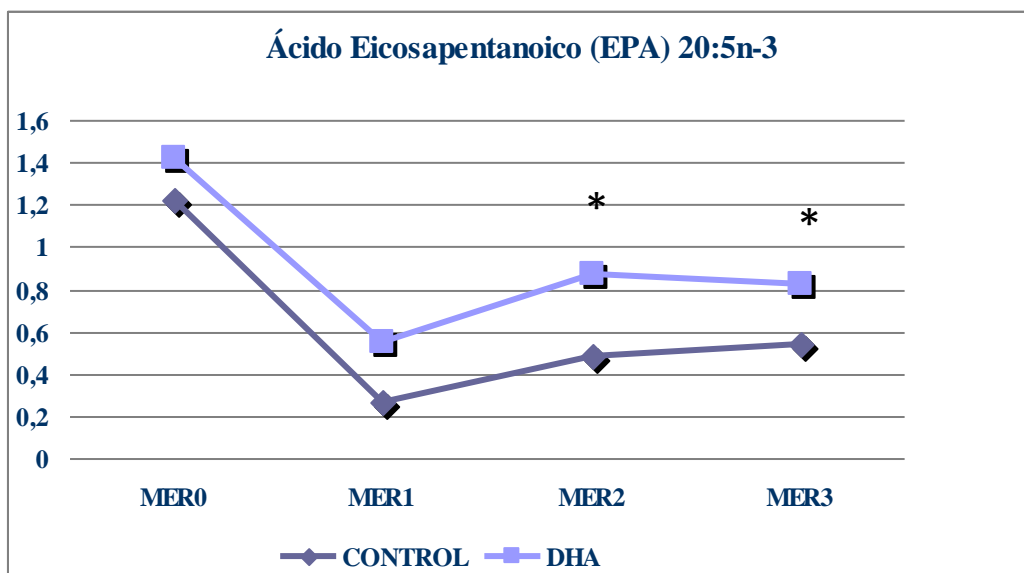
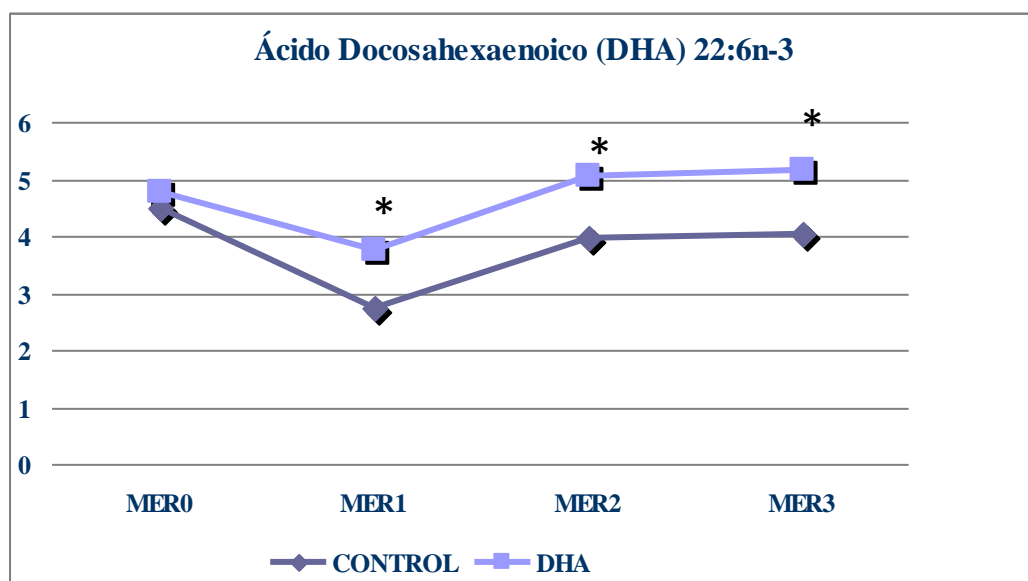


Figura 13c . Contenido de EPA en membrana de eritrocito materno.





**Figura 13d. Contenido de DHA en membrana de eritrocito materno.**

#### **5.4. Ácidos grasos en leche materna.**

Se obtuvieron muestras de leche materna en los tres primeros días de vida (calostro), al mes del parto y nuevamente y a los dos meses y medio y cuatro meses y medio (leche madura) con el fin de la intervención.

En las determinaciones realizadas en las distintas muestras, el dato más llamativo está relacionado con la evolución del DHA. En las cuatro determinaciones realizadas se aprecia cómo el nivel de DHA es más elevado en el grupo de intervención de modo estadísticamente significativo con  $p < 0,001$ . Del mismo modo, podemos observar cómo el nivel de EPA es más elevado en el grupo suplementado, en todas las muestras excepto en la del mes de vida. Tanto el ARA como el ácido Nervónico siguen un curso paralelo disminuyendo sus concentraciones paulatinamente en las sucesivas muestras tomadas. Tanto para el EPA como para el DHA las concentraciones se mantienen prácticamente estables o más elevadas en el grupo de intervención respecto al grupo control.

**Tabla 11. Perfil de los ácidos grasos en leche materna.**  
**(Resultados expresados % del total de Ac. grasos. Media  $\pm$  desviación estándar)**

ÁCIDO	MUESTRA	CONTROL	DHA	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	LM0	1,011 $\pm$ 0,290	1,050 $\pm$ 0,310	0,499
	LM1	0,641 $\pm$ 0,171	0,523 $\pm$ 0,220	0,133
	LM2	0,550 $\pm$ 0,131	0,531 $\pm$ 0,146	0,227
	LM3	0,491 $\pm$ 0,132	0,470 $\pm$ 0,153	0,961
Ácido Nervónico 24:1n-9	LM0	0,850 $\pm$ 0,380*	1,081 $\pm$ 0,520	0,029
	LM1	0,151 $\pm$ 0,007	0,142 $\pm$ 0,005	0,450
	LM2	0,152 $\pm$ 0,007*	0,121 $\pm$ 0,008	0,042
	LM3	0,009 $\pm$ 0,005	0,009 $\pm$ 0,003	0,984
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	LM0	0,120 $\pm$ 0,051*	0,221 $\pm$ 0,130	0,039
	LM1	0,123 $\pm$ 0,009*	0,181 $\pm$ 0,009	0,021
	LM2	0,112 $\pm$ 0,006*	0,181 $\pm$ 0,009	0,045
	LM3	0,080 $\pm$ 0,004*	0,171 $\pm$ 0,110	0,047
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	LM0	0,672 $\pm$ 0,290*	1,030 $\pm$ 0,382	0,010
	LM1	0,410 $\pm$ 0,171*	0,672 $\pm$ 0,261	0,001
	LM2	0,370 $\pm$ 0,191*	0,800 $\pm$ 0,331	0,001
	LM3	0,321 $\pm$ 0,153*	0,652 $\pm$ 0,371	0,002

LM0: Leche materna. Calostro. LM1: Leche materna al mes de vida. LM2: Leche materna a los dos meses y medio de vida. LM3: Leche materna a los 4,5 meses de vida. .\*:significación estadística  $p < 0,05$

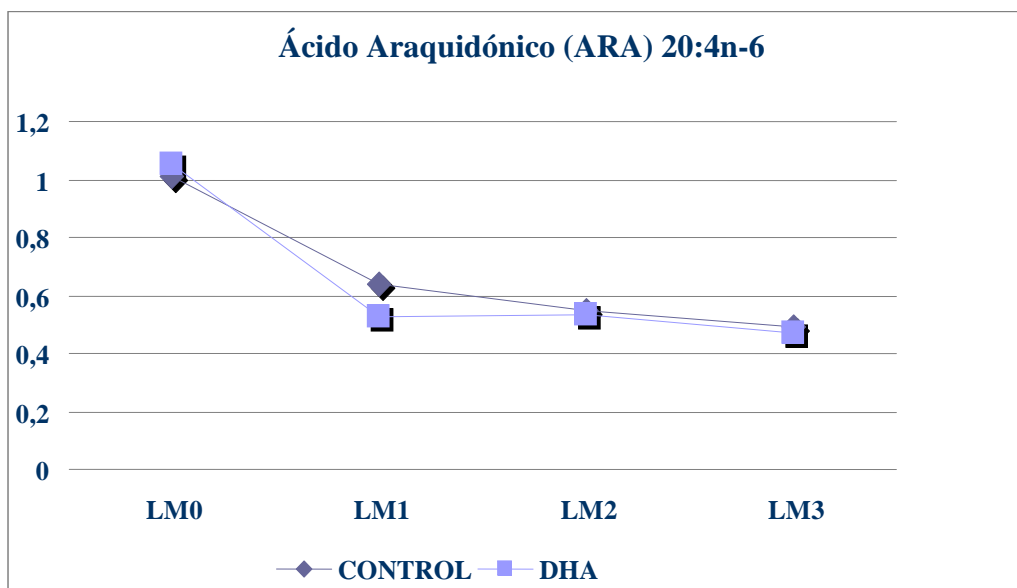


Figura 14a. Contenido de ARA en leche materna.

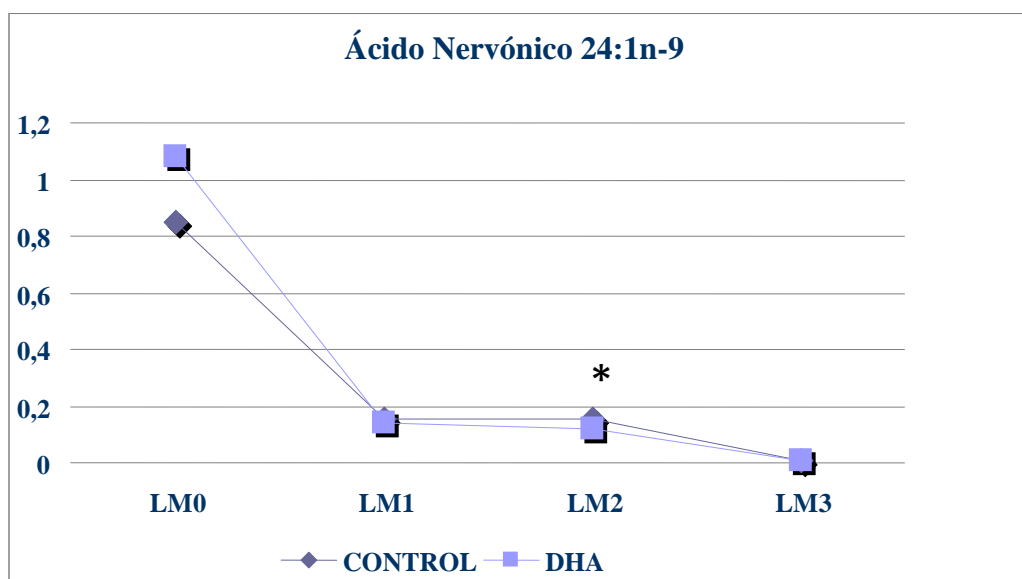


Figura 14b. Contenido de Ácido Nervónico en leche materna.

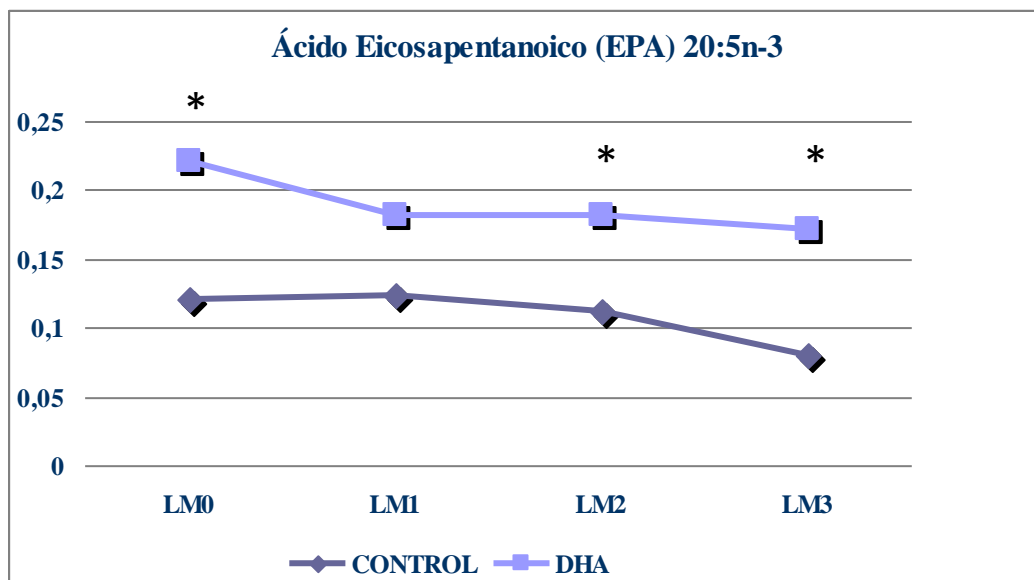


Figura 14c. Contenido de EPA en leche materna.

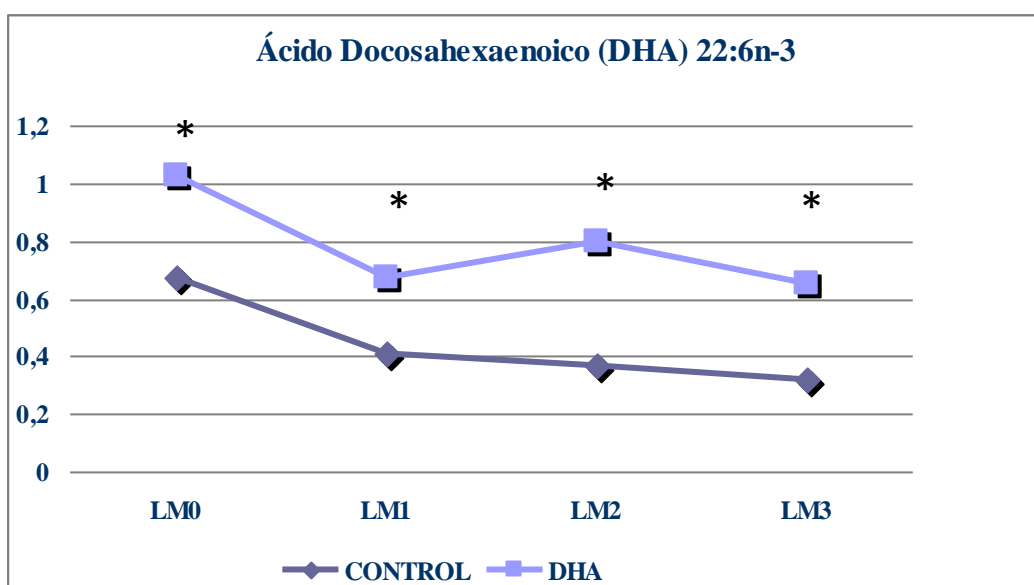


Figura 14d. Contenido de DHA en leche materna.

### 5.5. Ácidos grasos en plasma de hijo.

Se realizan determinaciones plasmáticas de ácidos grasos en los recién nacidos. Al nacimiento, de sangre de cordón, y a los dos meses y medio de vida.

Respecto al DHA, sus niveles se muestran más elevados en el grupo de intervención de modo significativo tanto al nacimiento como a los dos meses y medio de vida.

El EPA sigue un comportamiento similar, con diferencias favorables al grupo de intervención de modo significativo.

El ácido Nervónico se encuentra en mayores concentraciones en el grupo suplementado tanto al nacimiento como a los dos meses y medio.

**Tabla 12. Perfil de los ácidos grasos en plasma de vena y arteria umbilical y plasma del hijo. (Resultados expresados % del total de Ac. grasos. Media  $\pm$  desviación estándar) .**

ÁCIDO	MUESTRA	CONTROL	DHA	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	SHVU	15,130 $\pm$ 3,820*	13,740 $\pm$ 2,278	0,044
	SHAU	12,630 $\pm$ 2,830	12,380 $\pm$ 2,798	0,313
	SH1	7,100 $\pm$ 2,470	6,780 $\pm$ 1,564	0,503
Ácido Nervónico 24:1n-9	SHVU	2,430 $\pm$ 0,910	2,700 $\pm$ 1,280	0,641
	SHAU	1,830 $\pm$ 0,490*	2,150 $\pm$ 0,250	0,046
	SH1	1,850 $\pm$ 1,160*	2,560 $\pm$ 1,600	0,026
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	SHVU	0,190 $\pm$ 0,010*	0,450 $\pm$ 0,180	0,013
	SHAU	0,260 $\pm$ 0,150	0,400 $\pm$ 0,090	0,115
	SH1	0,280 $\pm$ 0,180*	0,490 $\pm$ 0,280	0,023
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	SHVU	4,580 $\pm$ 1,510*	5,35 $\pm$ 1,460	0,029
	SHAU	3,420 $\pm$ 0,860*	4,220 $\pm$ 1,100	0,004
	SH1	2,690 $\pm$ 1,400*	3,690 $\pm$ 1,430	0,003

SHVU: Plasma vena cordón umbilical. SHAU: Plasma arteria cordón umbilical. SH1: Plasma hijo a los 2,5 meses de vida . \*:significación estadística  $p < 0,05$

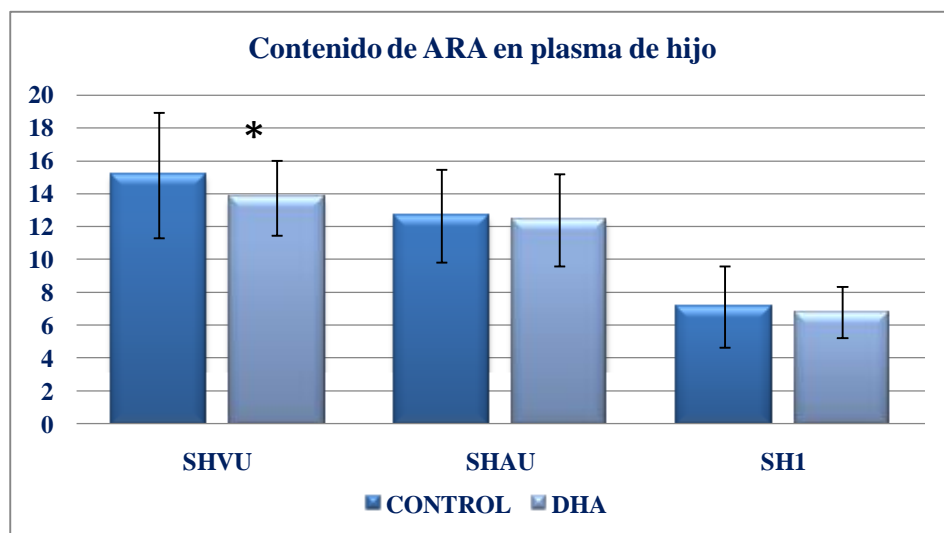


Figura 15a. Contenido de ARA en plasma de hijo.

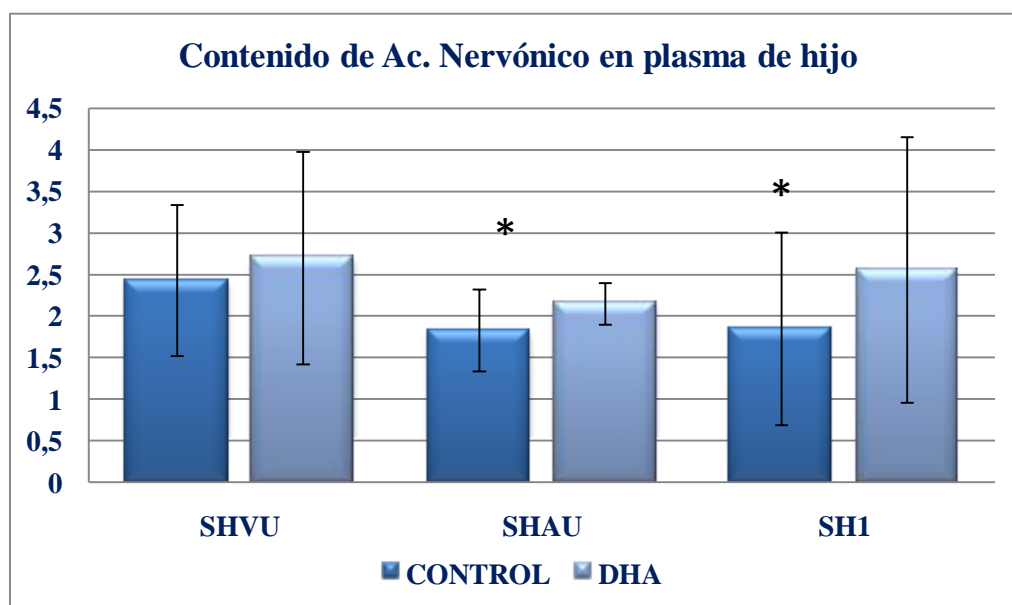


Figura 15b. Contenido de Acido Nervónico en plasma de hijo.

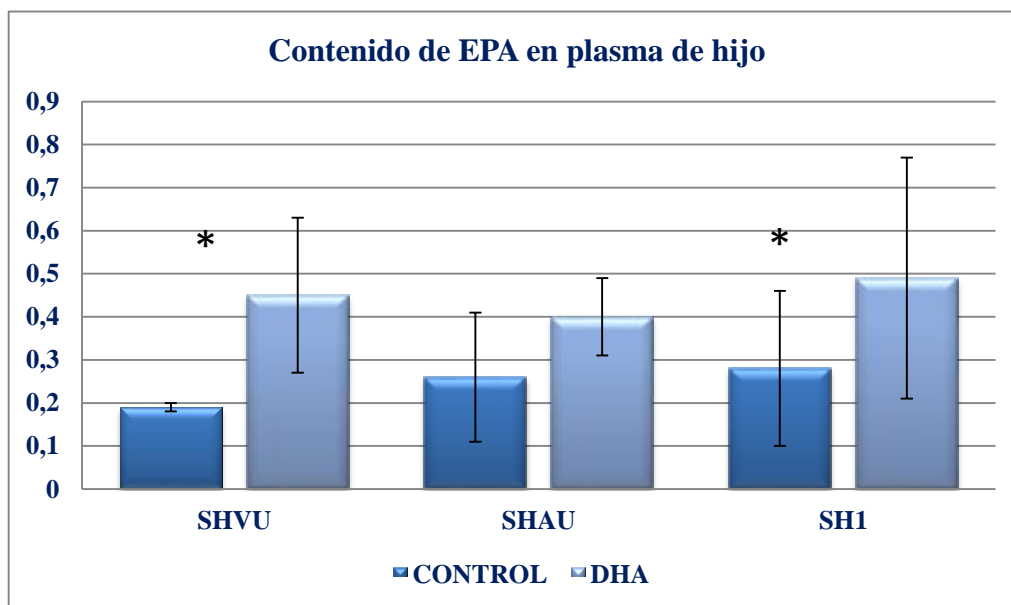


Figura 15c. Contenido de EPA en plasma de hijo

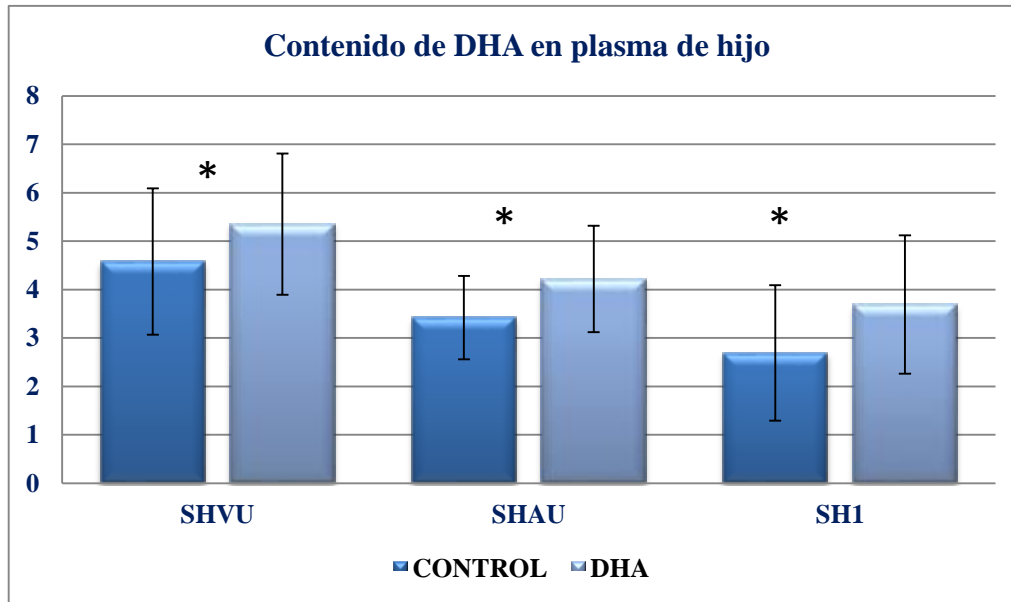


Figura 15d. Contenido de DHA en plasma de hijo.

### 5.5.1. Diferencias entre sexos de DHA en plasma de vena y arteria umbilical y plasma de hijo.

Se determinó si había diferencias entre niños y niñas respecto al nivel de DHA

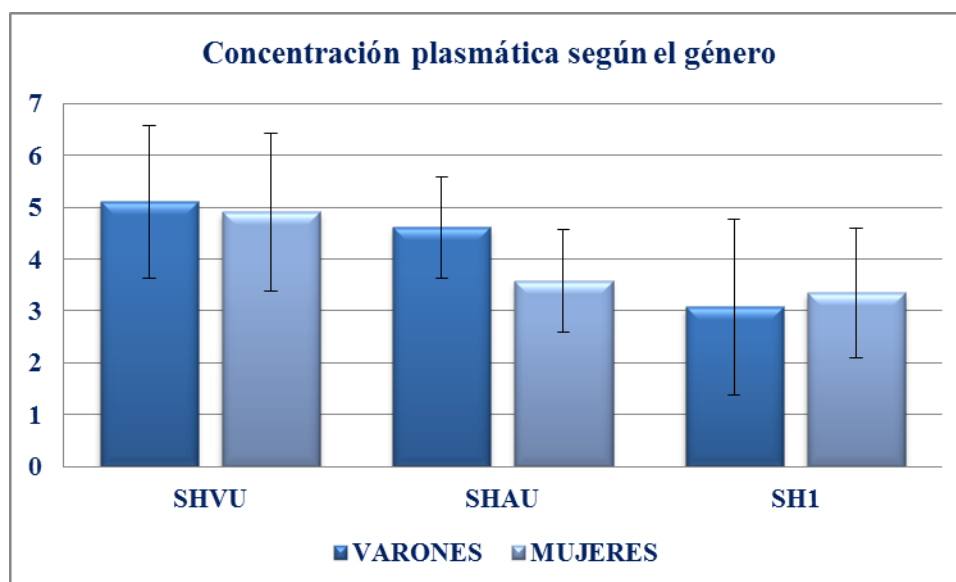
plasmático.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas, aunque sí un ligero aumento en los niveles de los varones en la muestra de los dos meses y medio de vida.

**Tabla 13. Concentración de los niveles de DHA según género del niño. (Resultados expresados % del total de Ac. grasos. Media  $\pm$  desviación estándar).**

	MUESTRA	VARONES	MUJERES	P
<b>DHA</b>	<b>SHVU</b>	5,110 $\pm$ 1,471	4,910 $\pm$ 1,521	0,496
	<b>SHAU</b>	4,612 $\pm$ 0,980	3,572 $\pm$ 0,990	0,115
	<b>SH1</b>	3,080 $\pm$ 1,702	3.352 $\pm$ 1,250	0,670

*SHVU: Plasma vena cordón umbilical. SHAU: Plasma arteria cordón umbilical. SH1: Plasma hijo a los 2,5 meses de vida .*



**Figura 16. Concentración plasmática de DHA según el género del niño**



### 5.6. Ácidos grasos en membrana de eritrocitos de sangre de vena y arteria umbilical y eritrocitos de sangre del hijo.

En la membrana de eritrocitos, el patrón de ácidos grasos es similar al del plasma, como se muestra en la tabla 14.

Respecto al DHA, sus niveles se muestran más elevados en el grupo de intervención de modo significativo tanto al nacimiento como a los dos meses y medio de vida.

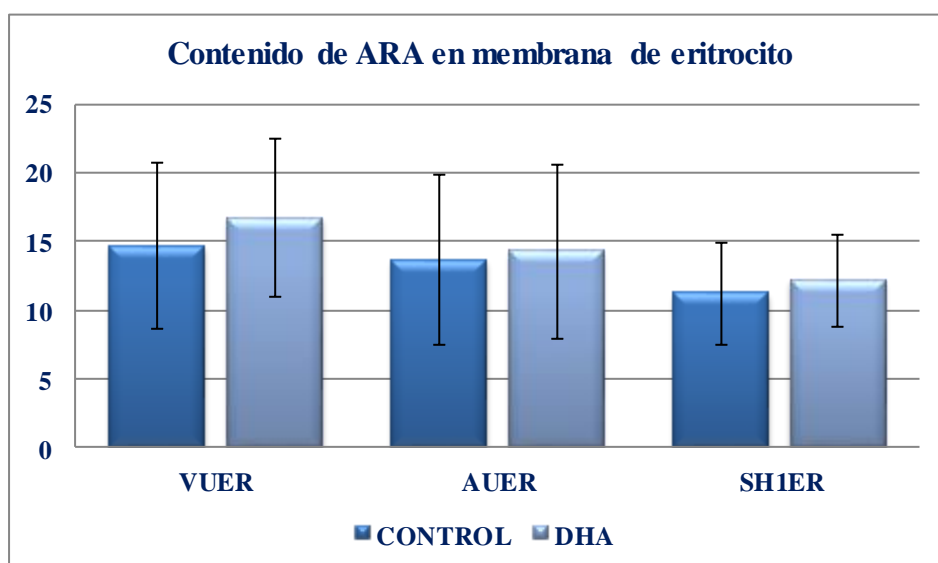
El EPA sigue un comportamiento similar, con diferencias favorables al grupo de intervención de modo significativo.

El ácido Nervónico se encuentra más elevado de modo significativo en la muestra de dos meses y medio.

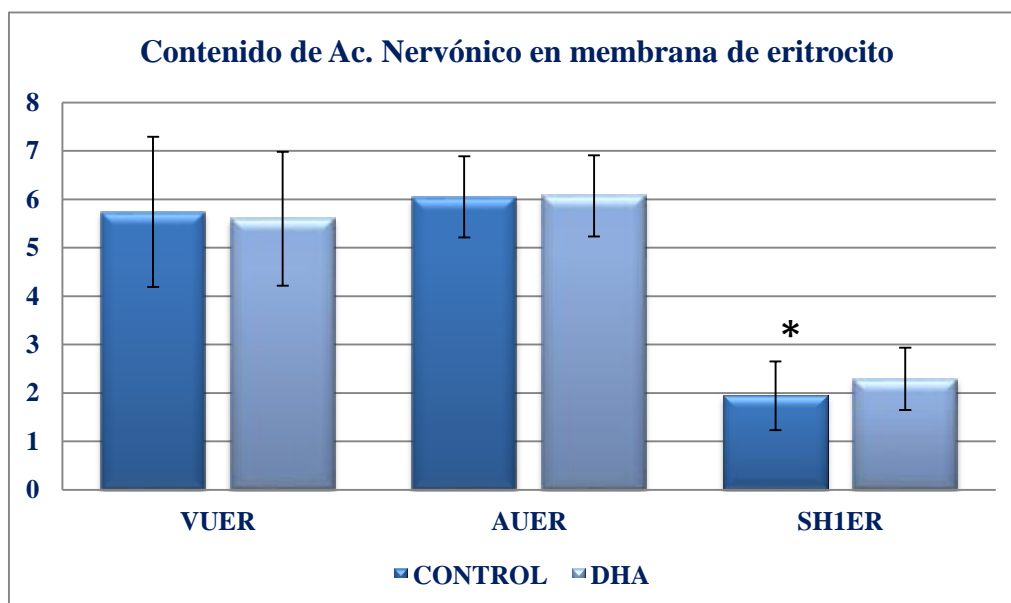
**Tabla 14. Perfil de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos de sangre de vena y arteria umbilical y eritrocitos de sangre del hijo.**

ÁCIDO	MUESTRA	CONTROL	DHA	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	VUER	14,670±6,090	16,680±5,760	0,179
	AUER	13,620±6,180	14,260±6,343	0,174
	SH1ER	11,240±3,720	12,171±3,315	0,087
Ácido Nervónico 24:1n-9	VUER	5,740±1,550	5,600±1,382	0,806
	AUER	6,052±0,841	6,071±0,841	0,753
	SH1ER	1,943±0,711*	2,293±0,643	0,021
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	VUER	0,081± 0,062*	0,130±0,072	<0,001
	AUER	0,072±0,032*	0,123±0,081	0,043
	SH1ER	0,230±0,152*	0,482±0,452	0,013
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	VUER	4,340±2,420*	5,850±2,203	0,027
	AUER	3,910±2,19*	5,482±2,840	0,043
	SH1ER	3,672±1,711*	5,180±2,190	0,001

VUER: Membrana de Eritrocitos de sangre vena umbilical. AUER: Membrana de Eritrocitos de sangre de arteria umbilical. SH1ER: Membrana de Eritrocitos de sangre del niño a los 2,5 meses. .\*:significación estadística  $p < 0,05$



**Figura 17a. Contenido de ARA en membrana de eritrocito**



**Figura 17b. Contenido de Acido Nervónico en membrana de eritrocito**

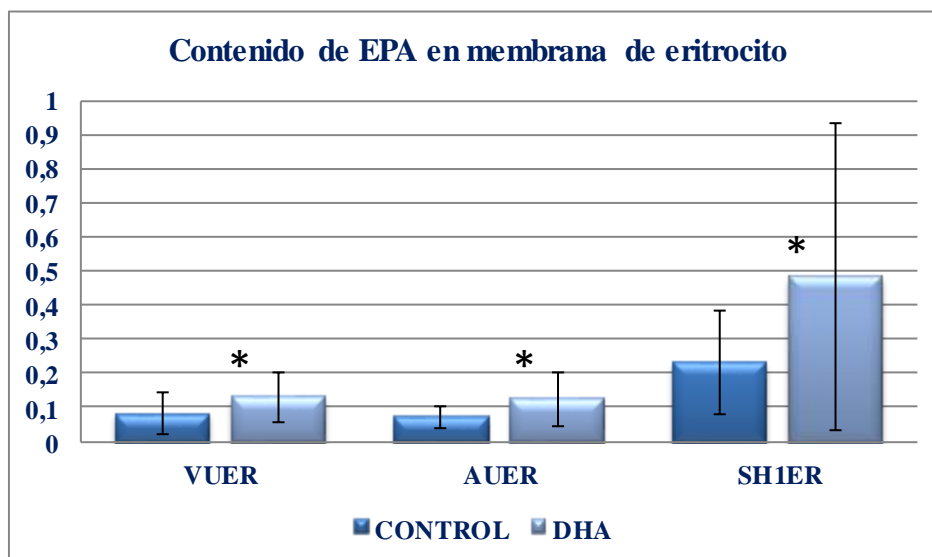


Figura 17c. Contenido de EPA en membrana de eritrocito

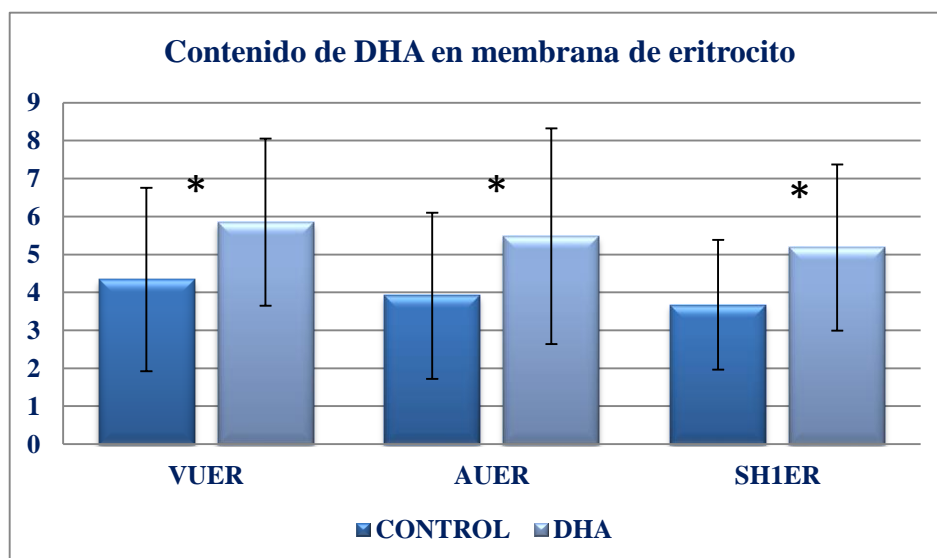


Figura 17d. Contenido de DHA en membrana de eritrocito

### 5.7. Resultados Test de Bayley.

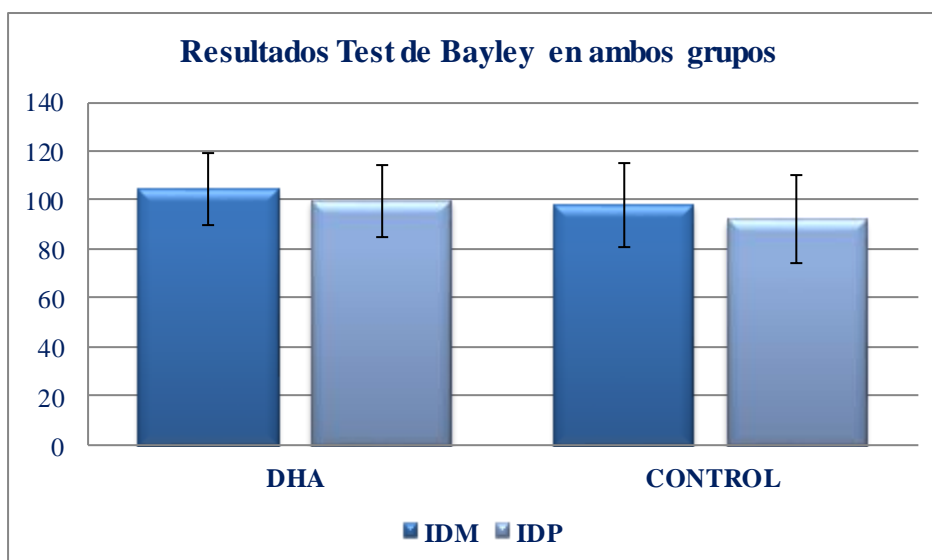
El Test de Bayley, versión II, se realizó a 56 lactantes (27 del grupo suplementado y 29 del grupo control) al año de vida.

Se obtuvieron puntuaciones medias para ambos grupos, tanto para la escala de desarrollo mental (IDM) como para la de desarrollo psicológico (IDP)

Los resultados se muestran en la siguiente tabla

**Tabla 15. Resultados Test de Bayley en ambos grupos**

	Grupo	n	puntuación	Desv. típica	p
Índice de desarrollo mental (IDM)	DHA	27	99,222	17,637	0.114
	CONTROL	29	92,931	17,648	
Índice de desarrollo psicomotor (IDP)	DHA	27	104,741	14,064	0.105
	CONTROL	29	97,034	14,855	



**Figura 18. Resultados del Test de Bayley (IDM e IDP) en ambos grupos**

Se comprueba cómo aunque hay una cierta tendencia a valores más altos de las dos escalas en el grupo suplementado, no hay significación estadística alguna en este dato.

Aplicando el Test de Pearson se realizaron diversas correlaciones entre los valores obtenidos de IDM e IDP y los niveles de DHA en las distintas determinaciones. Los resultados se muestran a continuación.

### 5.7.1. Correlación entre IDM e IDP y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno.

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos en la correlación entre las cifras de IDP e IDM y los valores de ácidos grasos en las muestras de sangre materna.

**Tabla 16. Correlación entre IDM e IDP y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA Y DHA en plasma materno.**

ACIDOS	MUESTRA	IDM		IDP	
		Rho	p	Rho	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	SMO	-0,161	0,235	-0,066	0,631
	SM1	-0,068	0,684	0,008	0,964
	SM2	-0,215	0,142	-0,027	0,857
	SM3	-0,110	0,938	0,172	0,227
Ácido Nervónico 24:1n-9	SMO	-0,125	0,357	-0,007	0,961
	SM1	-0,323*	0,048	0,008	0,415
	SM2	-0,070	0,636	-0,196	0,181
	SM3	0,098	0,494	0,089	0,536
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	SMO	0,003	0,980	-0,009	0,949
	SM1	-0,158	0,358	-0,185	0,280
	SM2	0,107	0,475	0,113	0,451
	SM3	0,082	0,566	0,017	0,908
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	SMO	-0,063	0,643	-0,049	0,719
	SM1	-0,002	0,991	-0,142	0,402
	SM2	-0,103	0,484	-0,26	0,075
	SM3	-0,028	0,848	-0,440	0,758

SMO: Plasma materno a los seis meses de gestación (captación). SM1: Plasma materno en el momento del parto. SM2: Plasma materno a los 2,5 meses del parto. SM3: Plasma materno a los 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se encuentra significación en la correlación entre el nivel del ácido Nervónico y el valor de IDM en la muestra tomada en el momento del parto. Niveles más bajos de ácido Nervónico se asocian a puntaje más elevado en el IDM.

Se comprueba cómo no existen otras correlaciones entre los valores de IDM e IDP y los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno en el resto de las

determinaciones realizadas.

### 5.7.2. Correlación entre IDM e IDP y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en membrana de eritrocitos maternos.

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos en la correlación entre las cifras de IDP e IDM y los valores de ácidos grasos en la membrana de eritrocitos de sangre materna.

**Tabla 17. Correlación entre IDM e IDP y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA Y DHA en membrana de eritrocitos maternos**

ACIDOS	MUESTRA	IDM		IDP	
		Rho	p	Rho	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	MER0	-0,078	0,581	-0,088	0,532
	MER1	-0,030	0,861	-0,236	0,166
	MER2	-0,233	0,100	0,029	0,838
	MER3	-0,125	0,376	0,123	0,387
Ácido Nervónico 24:1n-9	MER0	-0,055	0,694	0,013	0,927
	MER1	0,096	0,576	0,054	0,753
	MER2	0,082	0,567	0,054	0,708
	MER3	-0,032	0,821	0,060	0,969
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	MER0	-0,027	0,858	0,050	0,741
	MER1	0,142	0,470	-0,111	0,470
	MER2	0,059	0,682	-0,020	0,891
	MER3	0,068	0,174	-0,042	0,766
Ácido Docosaheptaenoico (DHA) 22:6n-3	MER0	0,014	0,922	-0,149	0,283
	MER1	0,086	0,619	-0,141	0,414
	MER2	-0,077	0,588	-0,135	0,341
	MER3	-0,044	0,754	-0,123	0,386

MER0: Membrana de eritrocito sangre materna a los seis meses de gestación (captación).MER1:Membrana de eritrocito sangre materna en el momento del parto.MER2: Membrana de eritrocito sangre materna a los 2,5 meses del parto.MER3: Membrana de eritrocito sangre materna 4,5 meses del parto.

Se comprueba cómo no existe correlación alguna entre los valores de IDM e IDP y los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en membrana de eritrocitos de sangre materna en ninguna de las determinaciones realizadas.

### 5.7.3. Correlación entre IDM e IDP y el nivel de de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna.

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos en la correlación entre las cifras de IDP e IDM y los valores de ácidos grasos en la leche materna.

**Tabla 18. Correlación entre IDM e IDP y el nivel de de ARA, ácido Nervónico, EPA Y DHA en leche materna.**

ACIDOS	MUESTRA	IDM		IDP	
		Rho	p	Rho	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	LM0	0,188	0,193	0,205	0,178
	LM1	0,158	0,277	-0,086	0,555
	LM2	0,254	0,105	0,319*	0,039
	LM3	-0,107	0,589	-0,052	0,792
Ácido Nervónico 24:1n-9	LM0	0,188	0,217	0,265	0,078
	LM1	-0,028	0,849	-0,212	0,143
	LM2	0,211	0,263	0,204	0,280
	LM3	-0,024	0,916	-0,013	0,954
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	LM0	0,274	0,242	-0,008	0,972
	LM1	0,189	0,193	-0,160	0,271
	LM2	0,154	0,425	0,179	0,354
	LM3	0,046	0,822	0,104	0,620
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	LM0	0,289	0,054	0,159	0,296
	LM1	0,009	0,952	-0,231	0,110
	LM2	0,023	0,870	0,290	0,115
	LM3	0,040	0,853	0,353	0,091

LM0: Leche materna. Calostro. LM1: Leche materna al mes de vida. LM2: Leche materna a los dos meses y medio de vida. LM3: Leche materna a los 4,5 meses de vida. .\*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia correlación entre el nivel de ARA en la muestra de 2,5 meses y el IDP. Mayores niveles de ARA se asocian con mejores resultados en IDP.

Se comprueba cómo no existen otras correlaciones entre los valores de IDM e IDP y los

niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna en el resto de las determinaciones realizadas.

#### 5.7.4. Correlación entre IDM e IDP y el nivel de de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los hijos.

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos en la correlación entre las cifras de IDP e IDM y los valores de ácidos grasos en la sangre de la vena umbilical y en la sangre del hijo a los dos meses de vida.

**Tabla 19. Correlación entre IDM e IDP y y el nivel de de ARA, ácido Nervónico, EPA Y DHA en plasma de los hijos.**

ACIDOS	MUESTRA	IDM		IDP	
		Rho	p	Rho	p
Ácido Araquidónico (ARA) 20:4n-6	SHVU	-0,134	0,402	-0,073	0,652
	SHAU	-0,172	0,524	-0,239	0,374
	SH1	-0,331*	0,019	-0,257	0,072
Ácido Nervónico 24:1n-9	SHVU	-0,133	0,409	-0,225	0,158
	SHAU	-0,152	0,575	-0,172	0,524
	SH1	-0,179	0,212	-0,382*	0,006
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	SHVU	0,151	0,563	-0,120	0,647
	SHAU	-0,321	0,482	0,252	0,585
	SH1	0,117	0,437	0,055	0,717
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	SHVU	0,061	0,703	0,140	0,384
	SHAU	-0,109	0,688	0,081	0,764
	SH1	-0,115	0,427	-0,253	0,770

SHVU: Plasma vena cordón umbilical. SHAU: Plasma arteria cordón umbilical. SH1: Plasma hijo a los 2,5 meses de vida. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia significación estadística en la correlación entre el nivel de ARA y el IDM en la muestra de los 2,5 meses de vida, y entre el nivel de ácido Nervónico y el IDP en el mismo momento. En ambos casos, los mejores resultados de IDM e IDP se asocian a



los niveles más bajos de los ácidos grasos referidos.

Se comprueba cómo no existen otras correlaciones entre los valores de IDM e IDP y los niveles plasmáticos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en los lactantes en ninguna de las determinaciones realizadas.

### 5.7.5 Correlación entre IDM e IDP y el nivel de de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en membrana de eritrocitos de la vena umbilical y membrana de eritrocitos de sangre del niño a los dos meses y medio de vida

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos.

**Tabla 20. Correlación entre IDM e IDP y y el nivel de de ARA, ácido Nervónico, EPA Y DHA en membrana de eritrocitos de la vena umbilical y membrana de eritrocitos de sangre del niño a 2,5 meses de vida.**

ACIDOS	MUESTRA	IDM		IDP	
		Rho	p	Rho	p
Ácido Araquidónico (ARA) C20:4n-6	VUER	0,630	0,698	0,110	0,499
	AUER	0,150	0,938	0,039	0,838
	SH1ER	-0,288*	0,045	-0,169	0,245
Ácido Nervónico C24:1n-9	VUER	0,107	0,512	0,100	0,538
	AUER	0,028	0,883	-0,037	0,846
	SH1ER	-0,193	0,185	-0,193	0,184
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) C20:5n-3	VUER	0,068	0,174	-0,005	0,976
	AUER	-0,030	0,880	-0,136	0,490
	SH1ER	-0,048	0,786	-0,231	0,190
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	VUER	0,064	0,695	0,084	0,605
	AUER	0,101	0,570	0,009	0,963
	SH1ER	-0,120	0,433	-0,268	0,700

VUER: Membrana de Eritrocitos de sangre vena umbilical. AUER: Membrana de Eritrocitos de sangre de arteria umbilical. SH1ER: Membrana de Eritrocitos de sangre del niño a los 2,5 meses. .\*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia significación estadística en la correlación entre el nivel de ARA y el IDM en la muestra de la membrana de eritrocitos de sangre del niño a los 2,5 meses de vida. Mayores niveles de ARA se asocian con resultados más bajos en IDM.

Se comprueba cómo no existen otras correlaciones entre los valores de IDM e IDP y los

niveles plasmáticos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en membrana de eritrocitos de los lactantes en ninguna de las determinaciones realizadas.

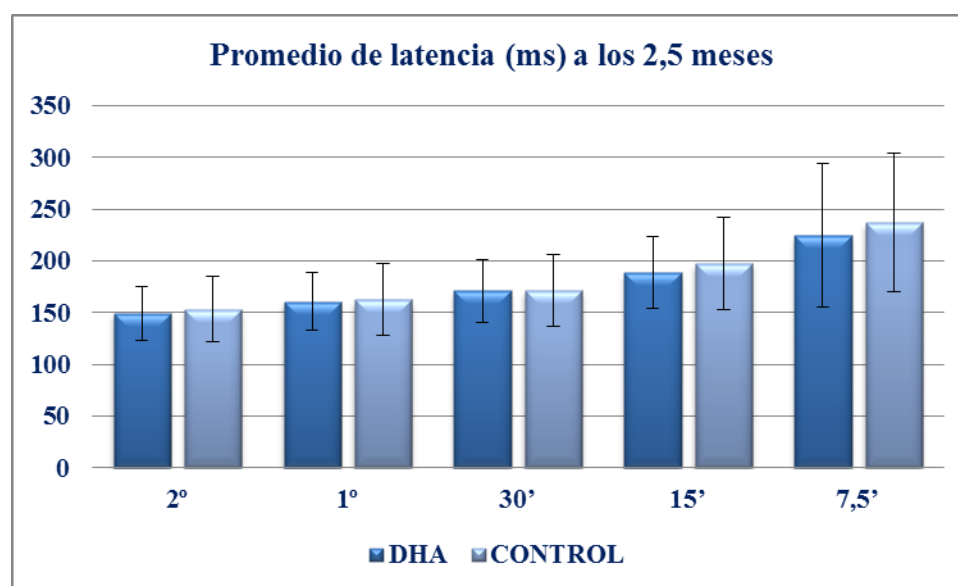
### 5.8. Potenciales evocados visuales a los dos meses y medio de vida.

En la siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos en las determinaciones de latencia y amplitud realizadas a los dos meses y medio.

La latencia está expresada en milisegundos (ms). La amplitud en microvoltios (mv), y está referida al segmento N1-P1 de la onda.

**Tabla 21. Promedio de latencia (milisegundos) a los 2,5 meses.**

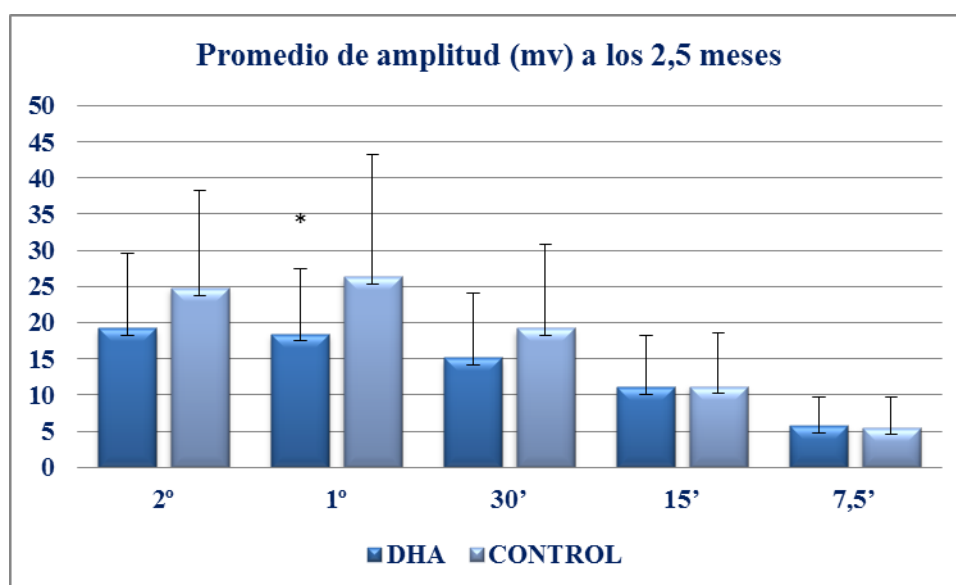
GRADOS	DHA	CONTROL	P
2°	149,232±25,653	153,381±32,052	0,603
1°	160,859±27,886	162,572±34,835	0,843
30'	171,359±30,406	171,357±34,756	1
15'	188,744±35,146	197,416±45,104	0,437
7,5'	224,672±69,153	237,053±66,563	0,531



**Figura 19. Promedio de latencia (milisegundos) a los 2,5 meses**

**Tabla 22. Promedio de amplitud (microvoltios) a los 2, 5 meses.**

GRADOS	DHA	CONTROL	p
2°	19,251±10,323	24,800±13,539	0,098
1°	18,485 ±9,043*	26,334±16,884	0,037
30'	15,180±8,902	19,222±11,535	0,158
15'	11,072±7,123	11,217±7,370	0,942
7,5'	5,734±4,049	5,528±4,204	0,865



**Figura 20. Promedio de amplitud (microvoltios) a los 2, 5 meses.**

Tanto la latencia como la amplitud se miden en cinco intensidades de estimulación: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'. Estas equivalen a los parámetros 6x8, 12x16, 24x32, 48x64 y 96x128, referidos al número de cuadrados del damero expuesto a los pacientes.

Respecto a la latencia se comprueba cómo aumenta progresivamente al disminuir la intensidad del estímulo. Se inicia en el entorno de los 150 milisegundos en los estímulos más intensos y se alarga hasta los 230 milisegundos con el estímulo de 7,5'. El grupo suplementado tiene un promedio algo inferior en todas las mediciones, pero se trata de diferencias sin significación estadística.

Al analizar los datos correspondientes a la amplitud, se aprecia cómo no hay diferencias entre un grupo y otro, excepto en el ángulo de estimulación menor, el de 1°.

Aquí se comprueba cómo en el grupo no suplementado la amplitud es mayor de modo estadísticamente significativo, con una  $p < 0,037$ .

### 5.8.1. Diferencias entre sexos en amplitud y latencia.

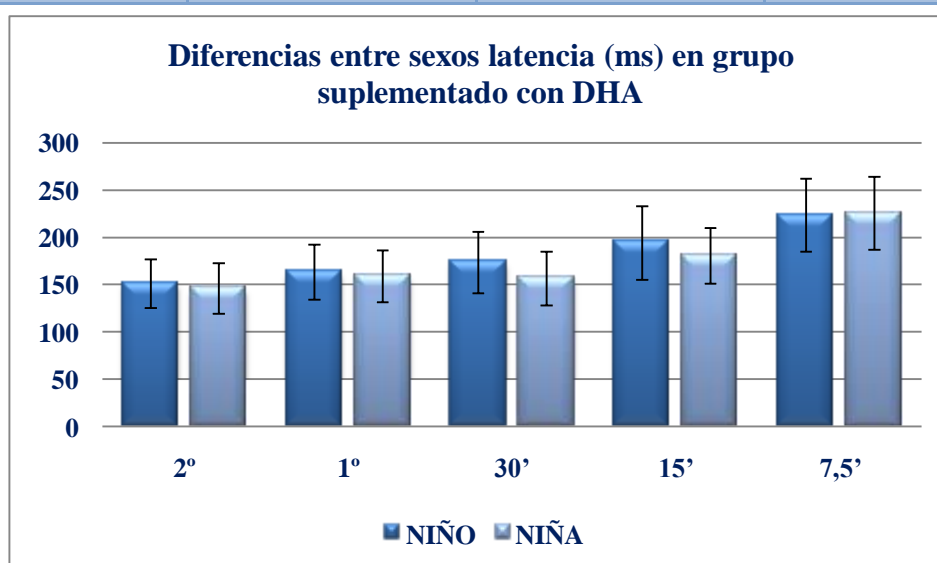
#### 5.8.1.1. Diferencias entre sexos en amplitud y latencia en grupo suplementado a los 2,5 meses.

Dentro del grupo suplementado, se agrupan los pacientes por sexos para comprobar si hay diferencias en cuanto a los promedios de latencia y amplitud en relación al género.

Los resultados se muestran en las siguientes tablas:

**Tabla 23. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en el grupo suplementado con DHA a los 2,5 meses**

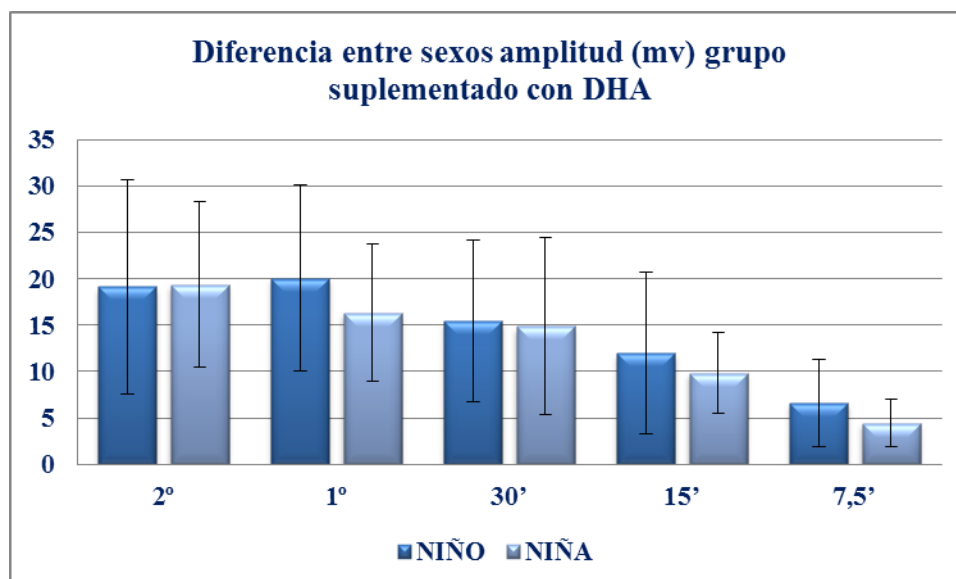
GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	151,491±25,597	146,155±26,642	0,443
1°	163,622±28,827	158,988±27,452	0,540
30'	173,778±32,514	157,091±28,472	0,760
15'	194,489±38,745	180,909±29,486	0,413
7,5'	223,705±38,777	225,930±38,403	0,605



**Figura 21. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en el grupo suplementado con DHA a los 2,5 meses.**

**Tabla 24. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) en el grupo suplementado con DHA a los 2,5 meses.**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	19,157±11,575	19,378±8,876	0,919
1°	20,0731±10,039	16,321±7,375	0,237
30'	15,420±8,736	14,854±9,542	0,919
15'	11,998±8,651	9,808±4,362	0,919
7,5'	6,615±4,718	4,461±2,562	0,357



**Figura 22. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) grupo suplementado con DHA a los 2,5 meses.**

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la latencia y a la amplitud entre los varones y mujeres del grupo suplementado en ninguno de los estímulos valorados.

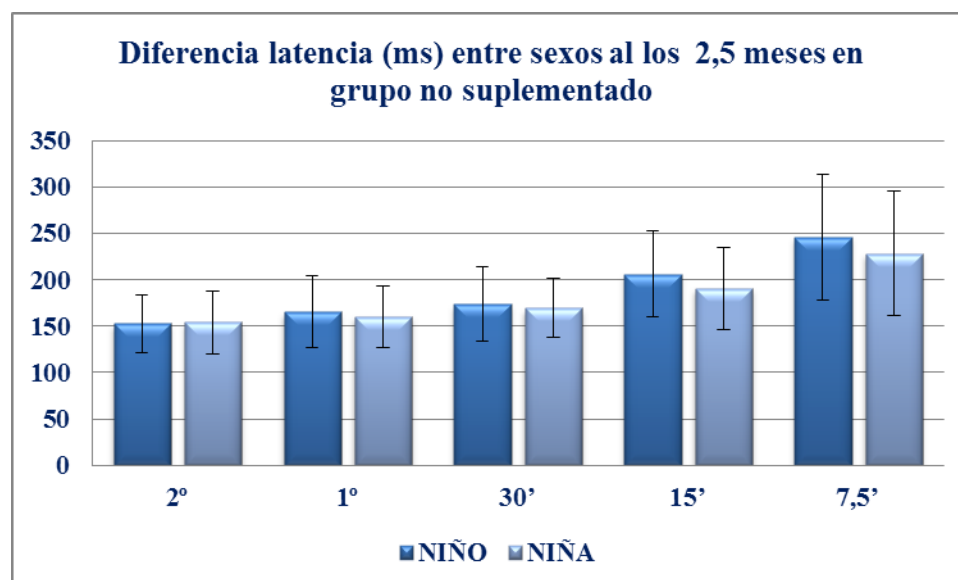
#### **5.8.1.2. Diferencias entre sexos en amplitud y latencia en grupo no suplementado a los dos meses y medio.**

Dentro del grupo suplementado, se agrupan los pacientes por sexos para comprobar si hay diferencias en cuanto a los promedios de latencia y amplitud en relación al género.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 25. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en el grupo no suplementado a los dos 2,5 meses**

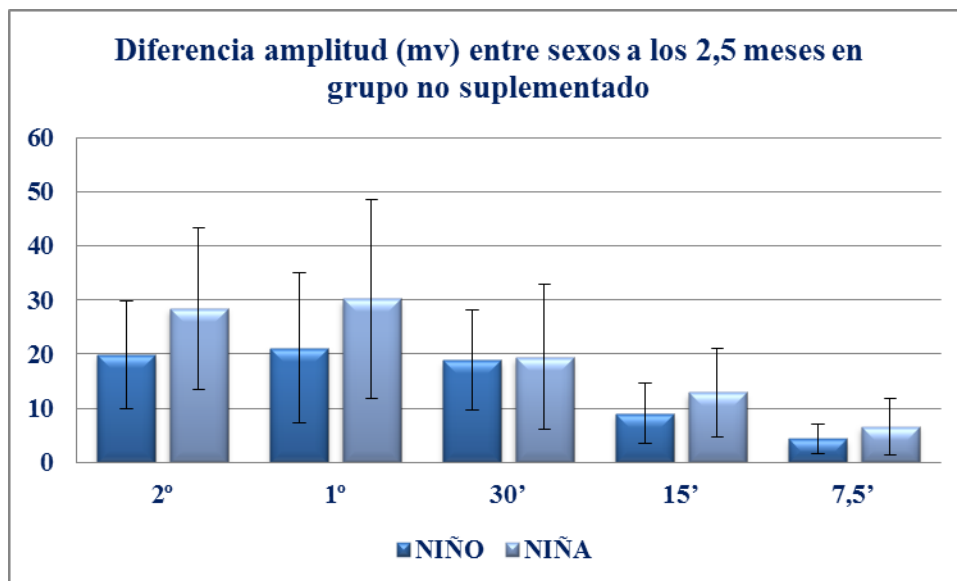
GRADOS	NIÑO	NIÑA	p
2°	152,555±31,296	154,000±33,615	0,873
1°	165,613±38,373	160,292±33,038	0,698
30'	173,888±39,722	169,458±31,754	0,909
15'	206,388±46,738	190,687±44,128	0,347
7,5'	246,333±67,824	228,487±66,926	0,611



**Figura 23. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en el grupo no suplementado a los 2,5 meses.**

**Tabla 26. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) en el grupo no suplementado a los 2,5 meses**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	p
2°	19,902±9,979	28,473±14,945	0,082
1°	21,161±13,852	30,214±18,301	0,241
30'	18,882±9,219	19,477±13,304	0,873
15'	8,999±5,598	12,880±8,241	0,090
7,5'	4,376±2,686	6,591±5,117	0,293



**Figura 24. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) en el grupo no suplementado a los 2,5 meses.**

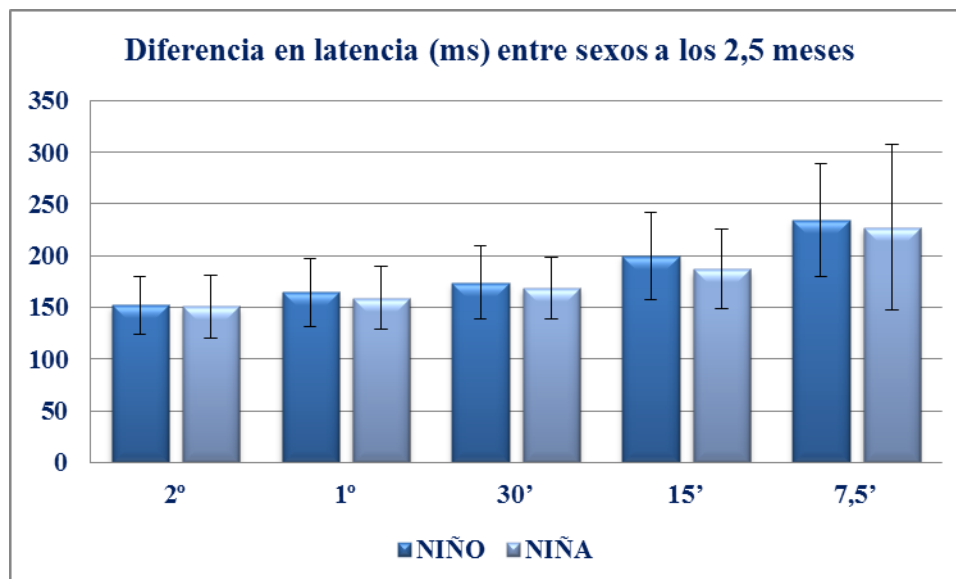
No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la latencia y a la amplitud entre los varones y mujeres del grupo no suplementado en ninguno de los estímulos valorados.

### 5.8.1.3. Diferencias globales entre sexos en latencia y amplitud a los dos meses y medio.

Al no encontrar diferencias estadísticamente significativas entre sexos en un grupo y otro, se decidió valorar globalmente si aparecían diferencias entre niños y niñas. El resultado se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 27. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) a los 2,5 meses**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	151,964±27,703	150,802±30,665	0,884
1°	164,507±32,733	158,987±30,366	0,523
30'	173,827±35,168	168,888±29,900	0,581
15'	199,777±42,058	186,703±38,494	0,239
7,5'	234,566±54,706	227,3754±80,038	0,716

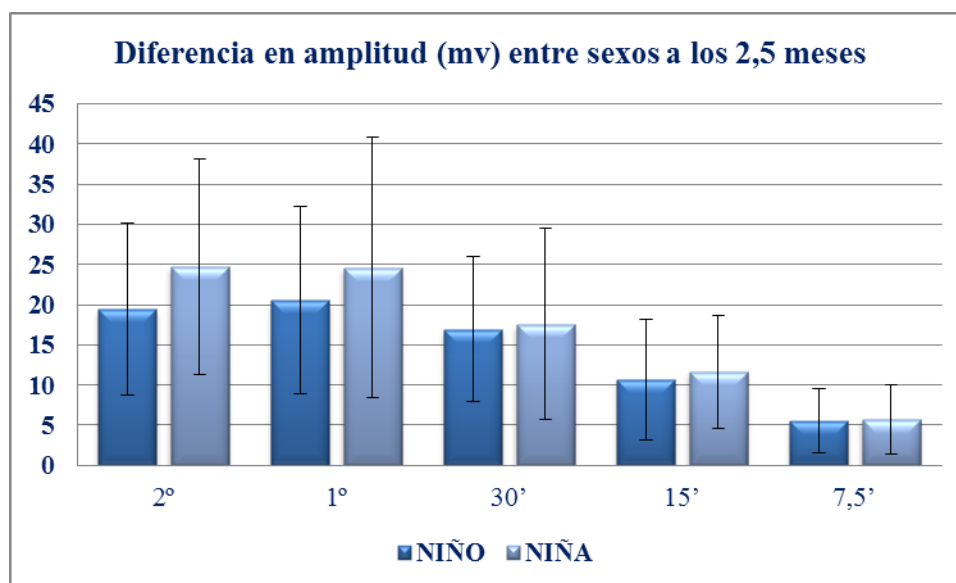


**Figura 25. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) a los 2,5 meses**

**Tabla28. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) a los 2,5 meses**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	19,488±10,697	24,768±13,412	0,116
1°	20,556±11,651	24,554±16,203	0,303
30'	16,959±8,951	17,593±11,937	0,826
15'	10,665±7,474	11,629±6,990	0,627
7,5'	5,541±3,968	5,720±4,314	0,883





**Figura 26. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) a los 2,5 meses.**

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la latencia entre varones y mujeres en ninguno de los estímulos valorados. Sí aparece una cierta tendencia a menor latencia entre las niñas respecto a los niños.

Respecto a la amplitud se comprueba una tendencia a valores inferiores en niños, sin que la diferencia sea significativa en ninguno de los estímulos estudiados.

### 5.8.2. Correlación entre los promedios de latencia y el perímetro craneal a los dos meses y medio de vida.

Se correlacionan los promedios de latencia en los diferentes estímulos, con el perímetro craneal de los lactantes a los dos meses y medio de vida.

Los valores obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

**Tabla29. Correlación entre el perímetro craneal (PC) y los potenciales a los 2,5 meses de vida.**

	Promedio latencia 2°		Promedio latencia 1°		Promedio latencia 30'		Promedio latencia 15'		Promedio latencia 7,5'	
	Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	P	Rho	p
<b>PC a los 2,5 meses de vida</b>	-,204	,139	-,141	,309	-,168	,223	-,046	,742	-,235	,109

No se aprecia correlación significativa alguna.

### 5.8.3. Correlaciones entre los promedios de latencia y los niveles de ácidos grasos maternos y de los lactantes.

#### 5.8.3.1. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno en las diferentes muestras de estudio

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de DHA, EPA y ácido Nervónico en plasma materno, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de latencia.

**Tabla30. Correlación entre los promedios de latencia a los 2,5 meses con el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno en las diferentes muestras del estudio.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	P	Rho	p	Rho	p	Rho	p
SMO	2°	0,114	0,41	-0,051	0,715	0,305*	0,025	0,035	0,8
	1°	0,089	0,523	-0,14	0,313	0,173	0,211	-0,028	0,842
	30'	0,145	0,294	-0,108	0,435	0,221	0,108	0,002	0,989
	15'	-0,037	0,792	-0,129	0,352	0,142	0,307	-0,061	0,663
	7,5'	-0,183	0,212	-0,118	0,426	0,107	0,467	-0,182	0,217
SM1	2°	0,055	0,744	-0,472*	0,003	0,098	0,576	0,056	0,742
	1°	-0,017	0,921	-0,500*	0,001	0,069	0,692	-0,037	0,83
	30'	-0,003	0,987	-0,425*	0,008	0,11	0,531	-0,138	0,414
	15'	0,003	0,988	-0,380*	0,019	0,197	0,258	0,003	0,988
	7,5'	-0,193	0,267	-0,467*	0,005	-0,097	0,596	-0,185	0,294
SM2	2°	0,098	0,506	-0,052	0,727	0,06	0,686	0,037	0,803
	1°	0,09	0,542	-0,178	0,227	0,052	0,729	-0,029	0,844
	30'	0,161	0,274	-0,17	0,249	-0,019	0,898	-0,052	0,723
	15'	-0,025	0,865	-0,012	0,934	0,023	0,88	0,111	0,454
	7,5'	-0,183	0,247	0,009	0,954	-0,235	0,139	-0,06	0,706
SM3	2°	0,121	0,408	-0,044	0,762	0,043	0,77	0,052	0,722
	1°	0,077	0,599	-0,215	0,137	-0,108	0,462	-0,044	0,765
	30'	0,18	0,215	-0,16	0,273	-0,101	0,489	-0,019	0,898
	15'	0,122	0,404	-0,073	0,617	-0,095	0,518	0,063	0,67
	7,5'	-0,092	0,553	0,056	0,719	-0,182	0,238	0,045	0,77

SMO: Plasma materno a los seis meses de gestación (captación). SM1: Plasma materno en el momento del parto. SM2: Plasma materno a los 2,5 meses del parto. SM3: Plasma materno a

los 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles maternos de ácido Nervónico en la muestra obtenida en el momento del parto y los promedios de latencia. Los niveles de ácido nervónico más elevados se asocian a una latencia menor en todos los estímulos visuales. Asimismo, se observa correlación estadísticamente significativa entre los niveles maternos de EPA en la muestra obtenida al inicio de la intervención y el promedio de latencia. Niveles más altos de EPA se asociaron a una mayor latencia.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos de ácidos grasos analizados maternos, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

### 5.8.3.2. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos maternos en las diferentes muestras de estudio.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de latencia.

**Tabla 31. Correlación entre los promedios de latencia a los 2,5 meses con el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en eritrocito materno en las diferentes muestras del estudio.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>MERO</b>	2°	-0,22	0,117	-0,244	0,082	0,029	0,845	-0,244	0,081
	1°	-0,044	0,757	-0,185	0,189	-0,013	0,929	-0,065	0,649
	30'	0,008	0,955	-0,097	0,495	-0,09	0,547	-0,026	0,856
	15'	-0,004	0,975	-0,189	0,181	0,12	0,42	-0,03	0,833
	7,5'	0,039	0,794	0,018	0,906	-0,09	0,57	-0,017	0,912

<b>MER1</b>	2°	0,329	0,05	0,275	0,104	-0,164	0,394	0,11	0,524
	1°	0,392*	0,018	0,292	0,084	-0,326	0,085	0,204	0,234
	30'	0,339*	0,043	0,305	0,071	-0,313	0,098	0,129	0,454
	15'	0,235	0,167	0,138	0,424	-0,014	0,941	0,083	0,629
	7,5'	0,155	0,389	0,159	0,377	-0,287	0,147	0,112	0,534
<b>MER2</b>	2°	-0,233	0,101	-0,163	0,253	-0,103	0,476	-0,212	0,136
	1°	-0,253	0,073	-0,223	0,115	-0,144	0,318	-0,293*	0,037
	30'	-0,14	0,326	-0,162	0,256	-0,193	0,18	-0,263	0,062
	15'	-0,149	0,295	-0,111	0,438	-0,044	0,76	-0,092	0,521
	7,5'	-0,231	0,127	0,011	0,941	-0,233	0,128	-0,122	0,426
<b>MER3</b>	2°	-0,168	0,239	-0,202	0,155	0,077	0,591	0	1
	1°	-0,179	0,208	-0,275	0,051	0,015	0,916	-0,021	0,881
	30'	-0,149	0,297	-0,265	0,060	-0,045	0,752	-0,039	0,788
	15'	-0,376*	0,007	-0,254	0,072	-0,057	0,69	-0,138	0,335
	7,5'	-0,157	0,302	-0,048	0,756	-0,059	0,702	0,07	0,649

*MER0: Membrana de eritrocito sangre materna a los seis meses de gestación (captación). MER1: Membrana de eritrocito sangre materna en el momento del parto. MER2: Membrana de eritrocito sangre materna a los 2,5 meses del parto. MER3: Membrana de eritrocito sangre materna 4,5 meses del parto. .\*:significación estadística  $p<0,05$*

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de DHA en membrana de eritrocitos de sangre materna en la muestra obtenida a los dos meses y medio de vida del lactante y el promedio de latencia. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una latencia menor pero únicamente en el estímulo de 1°.

En la muestra recogida en el momento del parto, se aprecia correlación entre la concentración de ARA en la membrana de eritrocitos de sangre materna y el promedio de latencia. En este caso el nivel de ARA más elevado se asocia a una latencia mayor para los estímulos de 1° y de 30'. Sin embargo, en la muestra de los cuatro meses y medio existe una correlación entre el nivel de ARA y el estímulo de 15'. Aquí un mayor nivel de ARA se asocia a una menor latencia.

También es de destacar la tendencia a la correlación entre la concentración de ácido Nervónico en la membrana de eritrocitos de sangre materna en la muestra de los 4 meses y medio de vida del lactante. Niveles altos de ácido Nervónico se correlacionan con un tiempo de latencia más bajo. La correlación es casi significativa, con  $p<0,051$  en el estímulo de 1° y con  $p<0,06$  en el estímulo de 30'.

El resto de correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

### 5.8.3.3. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico , EPA y DHA en leche materna en las diferentes muestras del estudio.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el parto hasta el final de la intervención a los cuatro meses y medio de vida del lactante, y los promedios de latencia.

**Tabla 32. Correlación entre los promedios de latencia a los 2,5 meses con el nivel de ARA, ácido Nervónico , EPA y DHA en Leche Madre en las diferentes muestras del estudio.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	P	Rho	p
<b>LMO</b>	2°	0,025	0,102	0,095	0,538	0,17	0,474	0,316*	0,036
	1°	0,188	0,222	0,02	0,898	0,065	0,787	0,257	0,092
	30'	0,094	0,542	-0,066	0,671	-0,044	0,855	0,050	0,747
	15'	0,059	0,701	-0,038	0,804	-0,087	0,714	0,037	0,045
	7,5'	0,048	0,768	0,099	0,544	0,284	0,269	0,045	0,781
<b>LM1</b>	2°	-0,004	0,978	-0,037	0,802	0,018	0,905	-0,015	0,92
	1°	-0,018	0,900	-0,055	0,710	-0,053	0,716	-0,052	0,722
	30'	-0,047	0,748	-0,033	0,825	-0,079	0,590	-0,100	0,492
	15'	0,068	0,642	0,073	0,619	0,018	0,901	0,050	0,734
	7,5'	0,074	0,633	0,163	0,292	0,172	0,264	0,007	0,962
<b>LM2</b>	2°	-0,017	0,917	-0,105	0,579	0,151	0,443	0,140	0,365
	1°	0,034	0,0833	-0,068	0,722	0,099	0,616	0,147	0,34
	30'	0,038	0,814	-0,029	0,880	0,075	0,705	0,119	0,443
	15'	0,082	0,609	0,100	0,599	0,047	0,813	0,228	0,137
	7,5'	-0,166	0,319	-0,150	0,455	-0,017	0,936	0,017	0,918

<b>LM3</b>	2°	-0,209	0,315	-0,360	0,116	-0,460*	0,031	-0,278	0,179
	1°	-0,314	0,127	-0,320	0,169	-0,451*	0,035	-0,292	0,156
	30'	-0,171	0,414	-0,334	0,150	-0,450*	0,036	-0,203	0,330
	15'	-0,168	0,430	-0,304	0,193	-0,358	0,102	-0,178	0,395
	7,5'	-0,392	0,064	-0,416	0,068	-0,066	0,775	-0,156	0,477

LM0 Leche materna. Calostro, LM1 Leche materna al mes de vida., LM2 Leche materna a los 2,5 meses de vida, LM3 Leche materna a los 4,5 meses de vida. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre el nivel de EPA en la leche madura obtenida a los cuatro meses y medio y el promedio de latencia en los estímulos visuales de 2°, 1° y 30'. Los niveles de EPA más elevados se asocian a una latencia menor.

Asímismo se aprecia correlación estadísticamente significativa entre el nivel de DHA en el calostro y el promedio de latencia en el estímulo visual de 2°. El nivel de DHA más elevado se asocia a una latencia menor.

El resto de correlaciones entre los niveles en leche materna de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

#### 5.8.3.4. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes, vena y arteria umbilical

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de latencia.

**Tabla 33. Correlación entre los promedios de latencia a los 2,5 meses y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes y vena y arteria umbilical.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>SHV0</b>	2°	-0,184	0,250	-0,177	0,268	0,705*	0,005	-0,224	0,160
	1°	-0,295	0,061	-0,320*	0,042	0,727*	0,003	-0,248	0,117
	30'	-0,267	0,092	-0,256	0,106	0,684*	0,007	-0,313*	0,046
	15'	-0,406*	0,009	-0,452*	0,003	0,411	0,144	-0,349*	0,002
	7,5'	0,147	0,393	0,109	0,527	0,071	0,817	-0,264	0,120

<b>SHA</b>	2°	-0,145	0,580	0,135	0,606	0,024	0,955	-0,176	0,498
	1°	-0,211	0,417	0,037	0,889	0	1	-0,181	0,486
	30'	-0,252	0,328	-0,039	0,881	0,024	0,955	-0,321	0,209
	15'	-0,443	0,075	-0,296	0,249	-0,575	0,136	-0,390	0,122
	7,5'	-0,175	0,533	0,246	0,376	-0,571	0,180	-0,214	0,443
<b>SHI</b>	2°	0,040	0,753	-0,103	0,478	0,053	0,726	-0,037	0,798
	1°	-0,096	0,506	-0,22	0,125	-0,116	0,442	-0,148	0,306
	30'	0,053	0,714	-0,116	0,421	-0,159	0,290	-0,082	0,570
	15'	0,080	0,579	-0,091	0,532	-0,026	0,866	0,034	0,817
	7,5'	-0,100	0,517	-0,020	0,900	-0,189	0,244	-0,125	0,419

*SHVO: Plasma vena cordón umbilical, SHA: Plasma arteria umbilical, SHI: Plasma hijo a los 2,5 meses de vida \*:significación estadística  $p < 0,05$*

En la muestra recogida en vena umbilical, se aprecia correlación entre la concentración plasmática de ARA y el promedio de latencia. En este caso el nivel de ARA más elevado se asocia a una latencia menor para el estímulo de 15'.

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles en vena umbilical de ácido Nervónico y los promedios de latencia. Los niveles de ácido Nervónico más elevados se asocian a una latencia menor en los estímulos visuales de 1° y 15'.

Asímismo se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles en vena umbilical de EPA y los promedios de latencia. Los niveles de EPA más elevados se asocian a una latencia mayor en los estímulos visuales de 2°, 1° y 30'.

Respecto al DHA, se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles en vena umbilical y los promedios de latencia. Los niveles de DHA más elevados se asocian a una latencia menor en los estímulos visuales de 30' y 15'.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en vena y arteria umbilical, así como a los dos meses y medio de vida de los lactantes, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

### 5.8.3.5. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de vena y arteria umbilical y eritrocitos de los lactantes.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de latencia.

**Tabla 34. Correlación entre los promedios de latencia a los 2,5 meses y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de vena y arteria umbilical y eritrocitos de los lactantes.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
VUER	2°	-0,245	0,184	0,231	0,146	-0,013	0,938	-0,125	0,434
	1°	-0,125	0,436	0,038	0,815	0,025	0,881	-0,154	0,336
	30'	0,205	0,020	-0,150	0,350	0,075	0,652	-0,227	0,153
	15'	0,012	0,941	0,005	0,975	0,206	0,207	0	0,998
	7,5'	0,780	0,651	0,348*	0,038	0,022	0,900	0,037	0,828
AUER	2°	0,222	0,179	0,130	0,486	0,119	0,540	-0,302	0,099
	1°	0,306	0,095	0,013	0,943	0,011	0,956	-0,375*	0,038
	30'	0,322	0,77	0,026	0,890	-0,066	0,735	-0,414*	0,021
	15'	0,208	0,262	0,204	0,270	0,033	0,866	-0,273	0,137
	7,5'	0,054	0,784	0,122	0,538	0,188	0,359	-0,144	0,465
SH1ER	2°	0,046	0,759	-0,103	0,478	0,053	0,726	-0,037	0,798
	1°	0,064	0,665	-0,220	0,125	-0,116	0,442	-0,148	0,306
	30'	0,003	0,982	-0,116	0,421	-0,159	0,290	-0,082	0,570
	15'	0,045	0,764	-0,091	0,532	-0,026	0,866	-0,034	0,817
	7,5'	-0,01	0,948	-0,020	0,900	-0,189	0,244	-0,125	0,419

VUER Membrana eritrocitos sangre vena umbilical. AUER Membrana eritrocitos sangre arteria umbilical SH1ER: Membrana de Eritrocitos de sangre del niño a los 2,5 meses. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de DHA en



membrana de eritrocitos de los lactantes en la arteria umbilical y el promedio de latencia. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una latencia menor pero únicamente en el estímulo de 30'. Asimismo se observa correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ácido Nervónico en membrana de eritrocitos de los lactantes en la vena umbilical y el promedio de latencia. En este caso, los niveles de ácido Nervónico más elevados se asocian con una latencia mayor, pero únicamente en el estímulo de 7,5'.

El resto de correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

**5.8.4. Correlación entre los promedios de amplitud y los niveles de ácidos grasos maternos y de los lactantes.**

**5.8.4.1. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno.**

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido nervónico, EPA y DHA en plasma materno, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de amplitud.

**Tabla 35. Correlación entre los promedios de la amplitud a los 2,5 meses y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno en las diferentes muestras del estudio.**

	Promedio Amplitud	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
SMO	2°	0,219	0,188	0,059	0,732	0,112	0,432	0,099	0,601
	1°	0,252	0,126	0,112	0,662	0,092	0,549	0,150	0,466
	30'	0,201	0,226	-0,198	0,422	-0,080	0,501	-0,099	0,392
	15'	0,213	0,203	0,127	0,699	0,113	0,604	0,093	0,401
	7,5'	0,273	0,118	0,059	0,530	0,201	0,394	0,182	0,508

<b>SM1</b>	2°	0,203	0,192	0,126	0,452	-0,178	0,307	0,132	0,437
	1°	0,267	0,133	0,232	0,161	-0,047	0,791	0,212	0,208
	30'	0,201	0,231	-0,036	0,830	-0,046	0,795	0,208	0,218
	15'	0,395*	0,014	0,319	0,051	-0,062	0,721	0,234	0,164
	7,5'	0,288	0,109	0,256	0,458	-0,036	0,785	0,205	0,256
<b>SM2</b>	2°	0,065	0,666	-0,072	0,627	0,191	0,199	0,037	0,802
	1°	0,143	0,333	0,057	0,700	0,293*	0,045	0,182	0,217
	30'	-0,043	0,771	-0,097	0,510	0,129	0,388	0,045	0,760
	15'	-0,043	0,773	-0,134	0,364	0,097	0,517	-0,061	0,680
	7,5'	0,129	0,421	-0,199	0,212	0,060	0,713	0,095	0,557
<b>SM3</b>	2°	0,05	0,733	-0,358*	0,011	0,262	0,069	0,021	0,888
	1°	0,175	0,228	-0,178	0,221	0,335*	0,019	0,131	0,370
	30'	0,092	0,531	-0,101	0,490	0,203	0,162	0,085	0,563
	15'	-0,02	0,89	-0,084	0,564	0,118	0,421	-0,005	0,973
	7,5'	0,091	0,563	-0,043	0,784	-0,065	0,679	-0,006	0,701

*SMO: Plasma materno a los seis meses de gestación (captación). SM1: Plasma materno en el momento del parto. SM2: Plasma materno a los 2,5 meses del parto. SM3: Plasma materno a los 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$*

En la muestra recogida en el momento del parto, se aprecia correlación entre la concentración plasmática de ARA y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de ARA más elevado se asocia a una amplitud mayor para el estímulo de 15'.

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de EPA en las muestras de plasma materno de los dos meses y medio y los cuatro meses y medio tras el parto, y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de EPA más elevado se asocia a una amplitud mayor pero únicamente en el estímulo de 1°.

También es de destacar la correlación entre la concentración de ácido Nervónico en la muestra de plasma materno de los cuatro meses y medio tras el parto. Niveles altos de ácido Nervónico se correlacionan con una amplitud más baja en el estímulo de 2°, de modo estadísticamente significativo.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos maternos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA maternos, y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

### 5.8.4.2. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de amplitud.

**Tabla 36. Correlación entre los promedios de amplitud a los 2,5 meses y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en membrana de eritrocitos de sangre materna en las diferentes muestras del estudio.**

	Promedio Amplitud	ARA C20:4n-6		Acido Nervónico C24:1n-9		EPA C20:5n-3		DHA C22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
MER0	2°	-0,028	0,84	-0,022	0,877	0,008	0,959	0,002	0,987
	1°	-0,047	0,739	-0,015	0,918	0,023	0,880	0,05	0,727
	30'	0,012	0,932	-0,046	0,744	-0,103	0,492	0,036	0,803
	15'	0,127	0,369	0,111	0,434	-0,019	0,902	0,158	0,263
	7,5'	0,274	0,065	0,079	0,600	-0,014	0,929	0,296*	0,046
MER1	2°	-0,143	0,407	-0,277	0,102	0,020	0,919	-0,058	0,736
	1°	-0,163	0,342	-0,104	0,545	0,119	0,538	-0,142	0,410
	30'	-0,175	0,307	-0,128	0,456	-0,167	0,388	-0,172	0,315
	15'	0,26	0,762	-0,111	0,519	0,053	0,786	0,151	0,380
	7,5'	0,289	0,109	0,235	0,196	-0,146	0,478	0,206	0,258
MER2	2°	-0,021	0,005	-0,072	0,614	0,134	0,355	0,086	0,547
	1°	0,082	0,569	-0,037	0,796	0,192	0,183	0,135	0,344
	30'	-0,047	0,742	-0,056	0,698	0,086	0,553	0,032	0,822
	15'	-0,002	0,987	-0,016	0,910	0,144	0,317	0,085	0,551
	7,5'	0,310*	0,038	0,227	0,134	0,077	0,620	0,170	0,265
MER3	2°	0,148	0,0338	0,067	0,639	0,097	0,5	-0,022	0,876
	1°	0,169	0,235	0,101	0,481	0,120	0,401	0,091	0,526
	30'	0,075	0,601	-0,062	0,668	-0,025	0,864	-0,085	0,555
	15'	-0,032	0,822	-0,017	0,907	-0,129	0,368	-0,161	0,259
	7,5'	0,011	0,937	-0,037	0,813	-0,283	0,063	-0,267	0,079

MER0: Membrana de eritrocito sangre materna a los seis meses de gestación (captación). MER1: Membrana de eritrocito sangre materna en el momento del parto. MER2: Membrana de eritrocito sangre materna a los 2,5 meses del parto. MER3: Membrana de eritrocito sangre materna 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$

En la muestra recogida a los dos meses y medio del parto, se aprecia correlación entre la concentración de ARA en la membrana del eritrocito y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de ARA más elevado se asocia a una amplitud mayor para el estímulo de 7,5'. Asimismo se aprecia correlación entre la concentración de DHA al inicio de la intervención y el promedio de amplitud; el nivel de DHA más elevado se asocia a una amplitud mayor para el estímulo de 7,5'.

No se aprecian correlaciones estadísticamente significativas entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna, y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5').

#### 5.8.4.3. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna en las diferentes muestras del estudio.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el parto hasta el final de la intervención a los cuatro meses y medio de vida del lactante, y los promedios de amplitud.

**Tabla 37. Correlación entre los promedios de amplitud a los 2,5 meses y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna en las diferentes muestras del estudio.**

	Promedio amplitud	ARA 20:4n-6		Ac. Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>LMO</b>	2°	0,010	0,948	0,154	0,319	-0,328	0,158	-0,040	0,799
	1°	0,021	0,892	0,133	0,391	0,006	0,980	0,046	0,766
	30'	0,120	0,440	0,128	0,408	-0,108	0,650	0,103	0,506
	15'	0,025	0,871	-0,055	0,721	-0,238	0,313	-0,032	0,835
	7,5'	0,195	0,233	0,005	0,977	0,035	0,897	0,041	0,804
<b>LM1</b>	2°	0,141	0,334	0,044	0,762	0,025	0,863	0,135	0,356
	1°	0,016	0,913	-0,098	0,501	-0,045	0,761	0,081	0,580
	30'	0,223	0,124	0,039	0,791	0,045	0,759	0,140	0,333
	15'	0,038	0,797	-0,092	0,532	-0,065	0,655	0,061	0,680
	7,5'	-0,031	0,840	-0,058	0,706	-0,046	0,768	-0,009	0,956

LM2	2°	0,221	0,164	0,178	0,347	0,134	0,498	0,056	0,719
	1°	0,016	0,921	0,042	0,827	-0,1	0,614	-0,04	0,795
	30'	-0,003	0,986	-0,063	0,739	-0,196	0,318	-0,001	0,997
	15'	0,105	0,512	0,072	0,705	0,03	0,088	0,101	0,516
	7,5'	-0,015	0,927	0,046	0,818	-0,325	0,112	-0,043	0,795
LM3	2°	0,112	0,596	0,149	0,531	0,014	0,950	0,038	0,858
	1°	0,113	0,590	0,116	0,627	-0,007	0,974	0,006	0,977
	30'	0,064	0,762	0,174	0,462	-0,027	0,907	-0,134	0,524
	15'	0,179	0,391	0,259	0,271	-0,106	0,594	-0,001	0,961
	7,5'	0,516*	0,012	0,472*	0,036	0,596*	0,005	0,533*	0,009

LM0 Leche materna. Calostro. LM1 Leche materna al mes de vida. LM2: Leche materna a los 2,5 meses de vida. LM3 Leche materna a los 4,5 meses de vida. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la leche madura obtenida a los cuatro meses y medio y el promedio de amplitud en el estímulo visual de 7,5'. Los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA más elevados se asocian a una amplitud mayor.

El resto de correlaciones entre los niveles en leche materna de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

#### **5.8.4.4. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes, vena y arteria umbilical.**

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de amplitud.

**Tabla 38. Correlación entre los promedios de amplitud a los 2,5 meses y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes, vena y arteria umbilical.**

	Promedio amplitud	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	P	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>SHVO</b>	2°	0,374*	0,016	0,206	0,197	0,051	0,864	0,328*	0,036
	1°	0,21	0,187	0,178	0,266	-0,213	0,464	0,201	0,208
	30'	0,269	0,089	0	0,999	-0,420	0,135	0,266	0,092
	15'	0,248	0,118	-0,031	0,846	-0,420	0,135	0,178	0,267
	7,5'	0,016	0,928	-0,058	0,740	-0,313	0,297	-0,157	0,367
<b>SHA</b>	2°	0,267	0,282	0,196	0,451	0,476	0,233	0,417	0,096
	1°	0,147	0,573	0,169	0,516	0,500	0,207	0,265	0,304
	30'	0,287	0,264	0,096	0,715	0,048	0,911	0,534*	0,027
	15'	-0,064	0,808	-0,245	0,343	0,333	0,420	0,299	0,244
	7,5'	0,204	0,483	0,029	0,923	-0,357	0,432	0,182	0,533
<b>SH1</b>	2°	-0,280*	0,049	-0,307*	0,030	0,051	0,735	-0,232	0,105
	1°	-0,228	0,111	-0,243	0,089	0,027	0,859	-0,180	0,212
	30'	-0,299*	0,035	-0,284*	0,046	0,021	0,887	-0,200	0,164
	15'	-0,169	0,270	-0,175	0,225	0,186	0,216	-0,083	0,569
	7,5'	-0,166	0,281	-0,106	0,491	-0,307	0,054	-0,206	0,180

SHVO: Plasma vena cordón umbilical, SHA: Plasma arteria umbilical, SH1: Plasma hijo a los 2,5 meses de vida . \*:significación estadística  $p < 0,05$

En la muestra recogida en vena umbilical, se aprecia correlación entre la concentración plasmática de ARA y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de ARA más elevado se asocia a una amplitud mayor para el estímulo de 2°. En la muestra obtenida a los dos meses y medio de vida del lactante, la significación es para los ángulos de 2° y de 30'. En este caso, mayor nivel de ARA se correlaciona con una amplitud más baja.

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles en vena y arteria umbilical de DHA y los promedios de amplitud. Los niveles de DHA más elevados se asocian a una amplitud mayor en los estímulos visuales de 2° y 30'.

Asímismo se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles en plasma de los lactantes a los dos meses y medio de vida de ácido Nervónico y los promedios de amplitud. Los niveles de dicho ácido graso más elevados se asocian a

una amplitud menor en el estímulo visual de 30'.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en vena y arteria umbilical, así como a los dos meses y medio de vida de los lactantes, y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

**5.8.4.5. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de vena y arteria umbilical y eritrocitos de los lactantes.**

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de amplitud.

**Tabla 39. Correlación entre los promedios de amplitud a los 2,5 meses y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de vena y arteria umbilical y eritrocitos de los lactantes.**

	Promedio amplitud	ARA 20:4n-6		Ac. Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	P	Rho	p	Rho	p	Rho	P
<b>VUER</b>	2°	0,163	0,308	0,051	0,751	-0,004	0,981	0,121	0,451
	1°	0,077	0,632	0,027	0,865	-0,042	0,798	0,060	0,708
	30'	0,025	0,875	-0,095	0,553	-0,006	0,972	0,065	0,686
	15'	0,318*	0,043	-0,058	0,717	0,229	0,161	0,359*	0,021
	7,5'	0,281	0,201	-0,231	0,182	0,213	0,234	0,344*	0,043
<b>AUER</b>	2°	-0,052	0,779	-0,188	0,312	-0,251	0,190	-0,094	0,617
	1°	0,024	0,898	-0,132	0,479	-0,104	0,590	0,013	0,944
	30'	-0,02	0,917	-0,214	0,248	-0,141	0,465	0,051	0,784
	15'	-0,01	0,959	-0,377*	0,037	-0,248	0,194	0,061	0,745
	7,5'	0,153	0,447	-0,239	0,229	-0,233	0,262	0,114	0,571

<b>SHIER</b>	2°	0,115	0,435	0,033	0,823	0,176	0,326	0,105	0,477
	1°	-0,009	0,952	-0,096	0,517	-0,026	0,887	-0,020	0,891
	30'	-0,041	0,78	-0,189	0,199	-0,118	0,512	-0,102	0,491
	15'	-0,11	0,457	-0,220	0,133	-0,032	0,861	-0,123	0,404
	7,5'	-0,279	0,077	-0,253	0,111	-0,160	0,416	-0,266	0,093

*VUER: Membrana de Eritrocitos de sangre vena umbilical. AUER: Membrana de Eritrocitos de sangre arteria umbilical SHIER: Membrana de Eritrocitos de sangre del niño a los 2,5 meses. \*:significación estadística  $p < 0,05$*

En la muestra recogida en vena umbilical, se aprecia correlación entre la concentración de ARA en la membrana del eritrocito y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de ARA más elevado se asocia a una amplitud mayor para el estímulo de 15'.

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de DHA en membrana de eritrocitos de los lactantes en la vena umbilical y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una amplitud mayor en el estímulo de 15' y 7,5'.

También se aprecia correlación entre los niveles de ácido Nervónico en membrana de eritrocitos de los lactantes en la muestra de dos meses y medio de vida y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de ácido Nervónico más elevado se asocia a una amplitud menor pero únicamente en el estímulo de 15'.

El resto de correlaciones entre las concentraciones de ARA, y ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes, y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

### **5.9. Potenciales evocados visuales a los siete meses y medio de vida.**

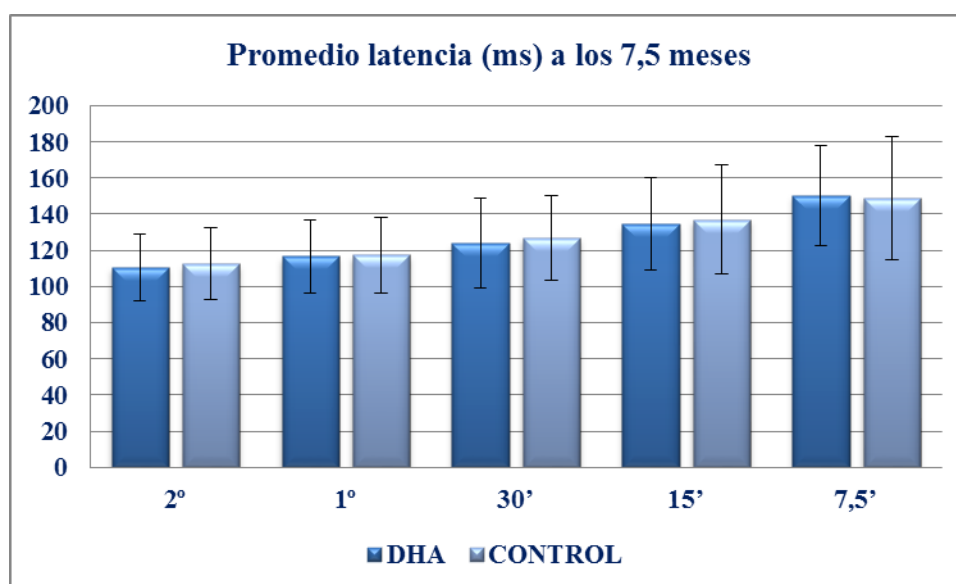
En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos en las determinaciones de latencia y amplitud realizadas a los siete meses y medio.

La latencia está expresada en milisegundos. La amplitud en microvoltios, y está referida al segmento N1-P1 de la onda.



**Tabla 40. Promedio latencia (milisegundos) a los 7,5 meses de edad.**

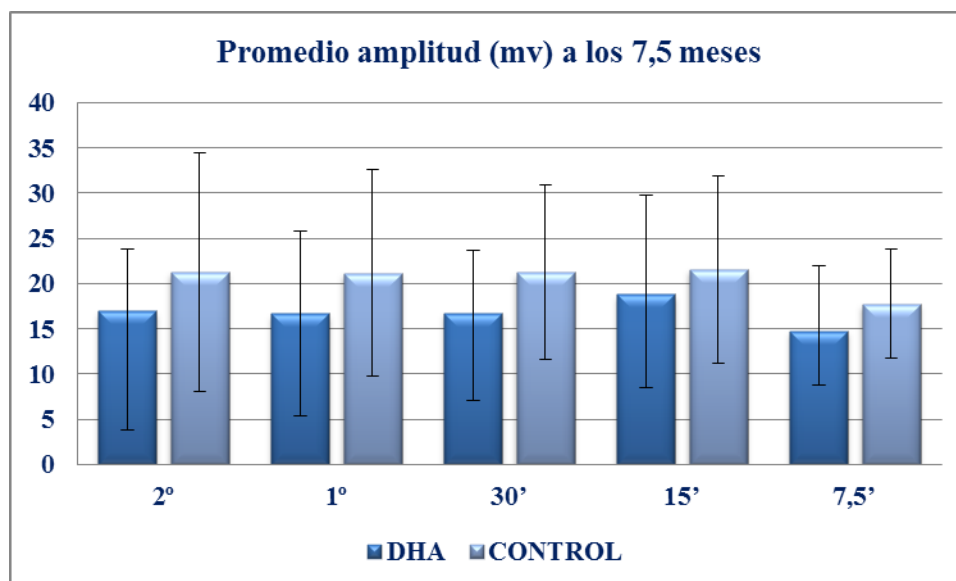
GRADOS	DHA	CONTROL	P
2°	110,682±18,642	112,594±20,019	0,609
1°	116,702±20,249	117,394±20,905	0,888
30'	123,737±24,849	126,875±23,194	0,790
15'	134,516±25,516	136,916±30,232	0,843
7,5'	150,320±27,509	148,968±33,989	0,504



**Figura 27. Promedio latencia (milisegundos) a los 7,5 meses.**

**Tabla 41. Promedio amplitud (microvotios) a los 7,5 meses.**

GRADOS	DHA	CONTROL	p
2°	16,976±6,804	21,279±13,239	0,213
1°	16,690±9,130	21,181±11,389	0,203
30'	16,726±6,981	21,229±9,639	0,209
15'	18,837±10,868	21,554±10,311	0,403
7,5'	14,737±7,293	17,77±6,032	0,272



**Figura 28. Promedio amplitud (microvotos) a los 7,5 meses**

Tanto la latencia como la amplitud se miden en cinco intensidades de estimulación: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'. Estas equivalen a los parámetros 6x8, 12x16, 24x32, 48x64 y 96x128, referidos al número de cuadrados del damero expuesto a los pacientes.

Respecto a la latencia se comprueba cómo aumenta progresivamente al disminuir la intensidad del estímulo. Se inicia en el entorno de los 110 milisegundos en los estímulos más intensos y se alarga hasta los 150 milisegundos con el estímulo de 7,5'. El grupo suplementado tiene un promedio algo inferior en todas las mediciones, pero se trata de diferencias sin significación estadística, y en valores absolutos incluso menores que las detectadas a los dos meses y medio.

Al analizar los datos correspondientes a la amplitud, se aprecia cómo no hay diferencias estadísticamente significativas entre un grupo y otro.

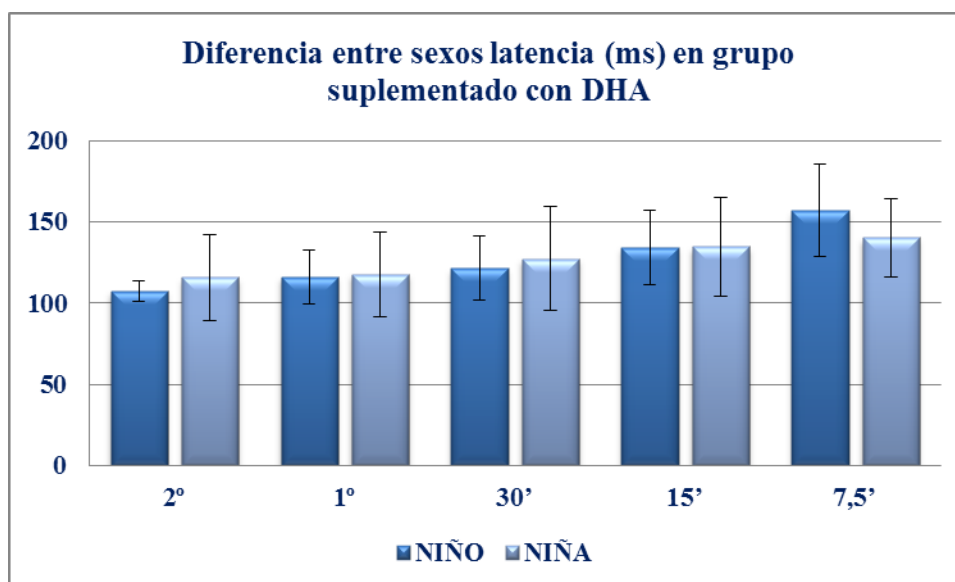
### **5.9.1. Diferencias entre sexos en latencia y amplitud en grupo suplementado a los siete meses y medio.**

Dentro del grupo suplementado, se agrupan los pacientes por sexos para comprobar si hay diferencias en cuanto a los promedios de latencia y amplitud en relación al género.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 42. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en grupo suplementado con DHA a los 7,5 meses.**

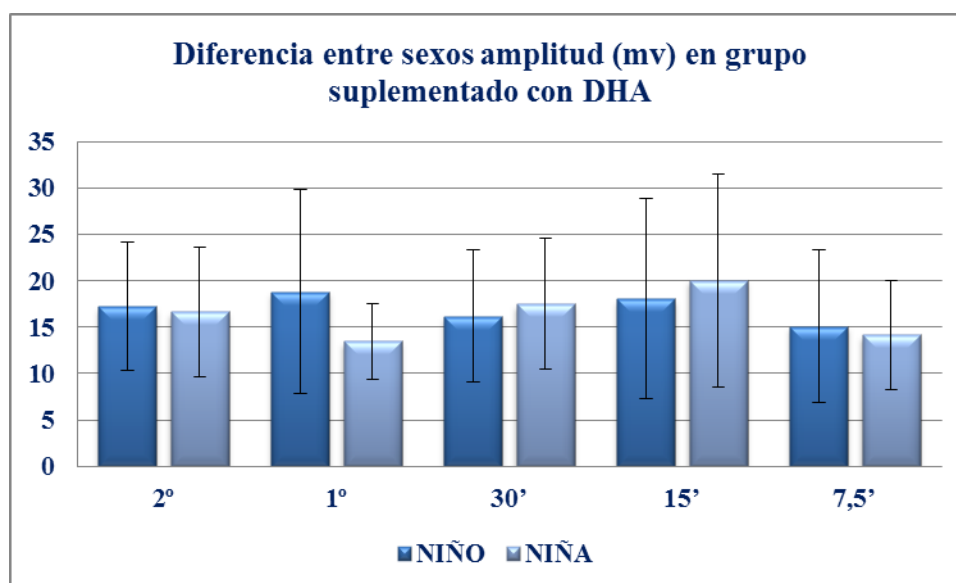
GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	107,351±6,006	115,680±26,712	0,228
1°	116,055±16,389	117,673±25,958	0,892
30'	121,377±19,829	127,276±31,808	0,412
15'	134,375±22,775	134,726±30,484	0,930
7,5'	157,066±28,280*	140,200±24,172	0,031



**Figura 29. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en grupo suplementado con DHA a los 7,5 meses**

**Tabla 43. Diferencia entre sexos amplitud (microvotios) en grupo suplementado DHA a los 7,5 meses.**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	p
2°	17,193±6,918	16,650±6,988	0,490
1°	18,835±10,948	13,473±4,084	0,211
30'	16,202±7,160	17,513±7,005	0,613
15'	18,031±10,797	20,046±11,442	0,515
7,5'	15,102±8,287	14,190±5,869	0,401



**Figura 30. Diferencia entre sexos amplitud (microvotios) en el grupo suplementado con DHA a los 7,5 meses.**

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la latencia entre los varones y mujeres del grupo suplementado en ninguno de los estímulos valorados.

Tampoco se encuentran diferencias en cuanto a la amplitud entre los varones y mujeres del grupo suplementado en ninguno de los estímulos valorados.

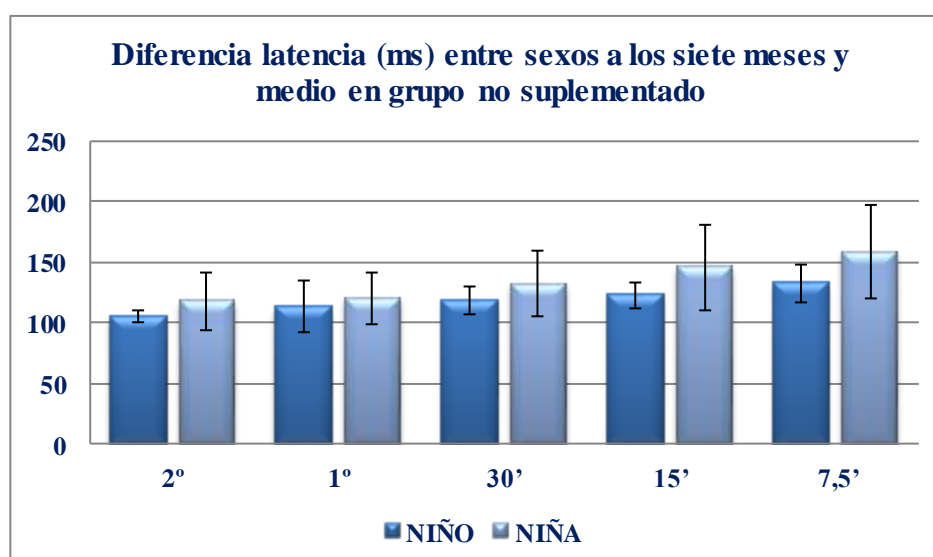
**5.9.2. Diferencias entre sexos en latencia y amplitud en grupo no suplementado a los siete meses y medio.**

Dentro del grupo no suplementado, se agrupan los pacientes por sexos para comprobar si hay diferencias en cuanto a los promedios de latencia y amplitud en relación al género.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 44. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en grupo no suplementado a los 7,5 meses**

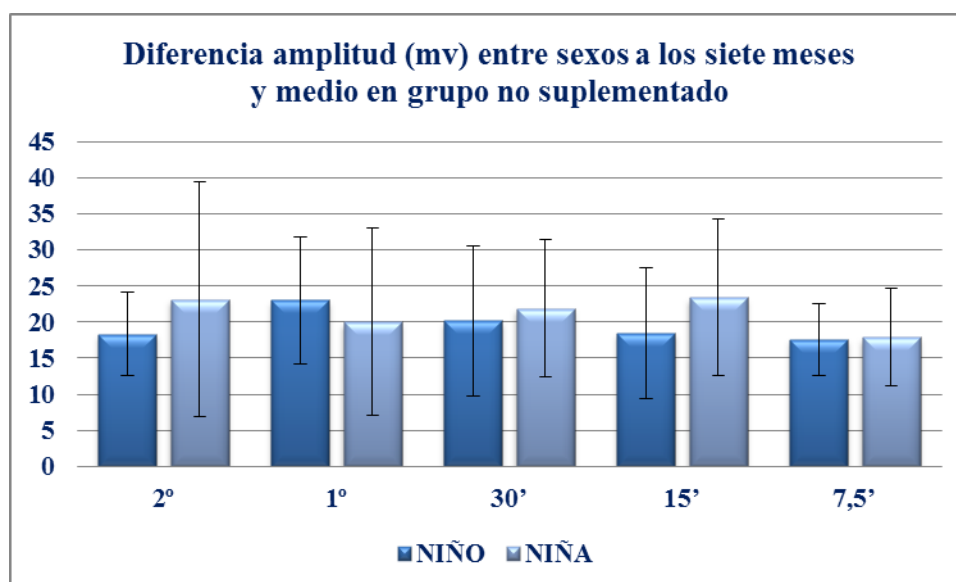
GRADOS	NIÑO	NIÑA	p
2°	104,837±4,597	117,581±24,429	0,072
1°	113,192±20,900	120,095±21,229	0,062
30'	118,407±10,884	132,319±27,495	0,250
15'	122,592±11,115	145,511±34,927	0,238
7,5'	132,495±15,393	158,381±38,421	0,365



**Figura 31. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) en grupo no suplementado a los 7,5 meses.**

**Tabla 45. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) en grupo no suplementado a los 7,5 meses**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	p
2°	18,351±5,792	23,161±16,316	0,829
1°	23,022±8,776	19,997±12,972	0,336
30'	20,177±10,361	21,904±9,481	0,829
15'	18,485±9,107	23,395±10,844	0,238
7,5'	17,633±4,991	17,852±6,734	0,920



**Figura 32. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) en el grupo no suplementado a los 7,5 meses.**

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la latencia entre los varones y mujeres del grupo no suplementado en ninguno de los estímulos valorados.

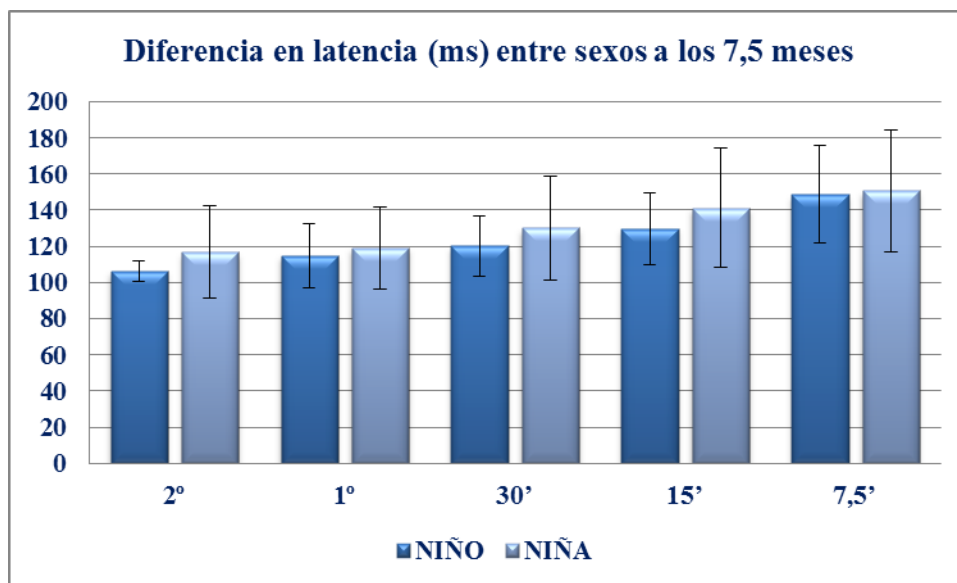
Tampoco se encuentran diferencias en cuanto a la amplitud entre los varones y mujeres del grupo suplementado en ninguno de los estímulos valorados.

**5.9.3. Diferencias globales entre sexos en amplitud y latencia a los siete meses y medio.**

Al no encontrar diferencias estadísticamente significativas entre sexos en un grupo y otro, se decidió valorar globalmente si aparecían diferencias entre niños y niñas. El resultado se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 46. Diferencia entre sexos latencia (milisegundos) a los 7,5 meses.**

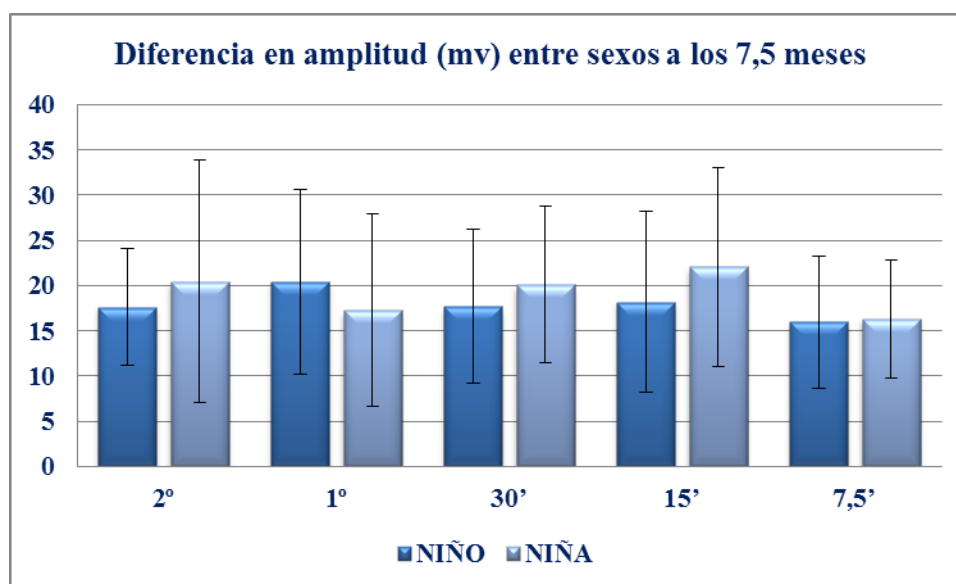
GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	106,408±5,555	116,788±25,706	0,230
1°	114,981±17,817	119,068±22,801	0,428
30'	120,263±16,813	130,218±28,803	0,290
15'	129,956±19,815	141,197±33,002	0,284
7,5'	148,520±26,972	150,805±33,865	0,813



**Figura 33. Diferencia entre sexos latencia (microsegundos) a los 7,5 meses.**

**Tabla 47. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) a los 7,5 meses.**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	17,627±6,413	20,448±13,429	0,301
1°	20,405±10,199	17,279±10,603	0,322
30'	17,693±8,51	20,075±8,655	0,312
15'	18,201±9,993	22,056±10,977	0,430
7,5'	15,982±7,290	16,326±6,520	0,910

**Figura 34. Diferencia entre sexos amplitud (microvoltios) a los 7,5 meses.**

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la latencia entre varones y mujeres en ninguno de los estímulos valorados. Sí aparece una cierta tendencia a menor latencia entre las niños respecto a las niñas.

Respecto a la amplitud se comprueba una tendencia a valores inferiores en niños, sin que la diferencia sea significativa en ninguno de los estímulos estudiados.



#### 5.9.4. Correlación entre los promedios de latencia y el perímetro craneal a los siete meses y medio de vida.

Se correlacionan los promedios de latencia en los diferentes estímulos, con el perímetro craneal de los lactantes a los siete meses y medio de vida.

Los valores obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

**Tabla 48. Correlaciones del perímetro craneal (PC) y latencia en los potenciales a los 7,5 meses de vida.**

	Promedio latencia 6x8		Promedio latencia 12x16		Promedio latencia 24x32		Promedio latencia 48x64		Promedio latencia 96x128	
	Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>PC a los 7,5 meses de vida</b>	-0,15	0,29	0,04	0,79	-0,04	0,79	0,07	0,61	0,16	0,26

No se aprecia correlación significativa alguna

#### 5.9.5. Correlación entre los promedios de latencia y los niveles de ácidos grasos maternos y de los lactantes a los siete meses y medio.

##### 5.9.5.1. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de latencia.

**Tabla 49. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Ac. Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>SM0</b>	2°	-0,173	0,239	-0,007	0,965	0,207	0,158	0,062	0,676
	1°	-0,334*	0,021	0,048	0,747	0,542*	0	0,127	0,388
	30'	-0,164	0,265	0,098	0,506	0,257	0,078	0,118	0,423
	15'	-0,192	0,187	0,146	0,318	0,028	0,847	0,082	0,573
	7,5'	0,122	0,413	0,262	0,075	-0,150	0,315	0,119	0,425

<b>SM1</b>	2°	-0,041	0,8816	0,144	0,418	-0,017	0,927	0,341	0,052
	1°	-0,25	0,155	0,025	0,889	0,027	0,882	0,193	0,283
	30´	-0,018	0,919	0,101	0,568	0,107	0,558	0,404*	0,020
	15´	-0,214	0,218	0,254	0,141	-0,015	0,934	0,181	0,305
	7,5´	0,011	0,952	0,215	0,223	0,169	0,364	0,015	0,935
<b>SM2</b>	2°	-0,14	0,301	0,015	0,356	-0,002	0,658	0,256	0,562
	1°	-0,220	0,130	0,125	0,256	0,012	0,325	0,278	0,235
	30´	-0,20	0,232	0,156	0,654	0,198	0,548	0,326	0,301
	15´	-0,232	0,129	0,259	0,225	-0,125	0,321	0,158	0,456
	7,5´	0,06	0,732	0,289	0,365	-0,098	0,125	0,169	0,244
<b>SM3</b>	2°	-0,166	0,286	-0,012	0,941	0,275	0,074	0,063	0,688
	1°	-0,318*	0,038	0,176	0,259	0,354*	0,020	0,240	0,121
	30´	-0,19	0,222	0,204	0,190	0,393*	0,009	0,305*	0,047
	15´	-0,233	0,129	0,246	0,108	0,333*	0,027	0,216	0,160
	7,5´	0,05	0,751	0,224	0,153	0,043	0,785	0,187	0,235

*SMO: Plasma materno a los seis meses de gestación (captación).SM1: Plasma materno en el momento del parto.SM2: Plasma materno a los 2,5 meses del parto. SM3: Plasma materno a los 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$*

En las muestras recogidas en el parto y a los cuatro meses y medio, se aprecia correlación entre la concentración plasmática de ARA y el promedio de latencia. En este caso el nivel de ARA más elevado se asocia a una latencia menor para el estímulo de 1°.

En las muestras recogidas en el parto y a los cuatro meses y medio, se aprecia correlación entre la concentración plasmática de EPA y el promedio de latencia. En este caso el nivel de EPA más elevado se asocia a una latencia mayor para el estímulo de 15´ en la muestra del parto, y para los de 1°, 30´ y 15´ en la muestra de los cuatro meses y medio.

En la muestra recogida a los cuatro meses y medio, se aprecia correlación entre la concentración plasmática de DHA y el promedio de latencia. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una latencia mayor para el estímulo de 30´.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA maternos, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30´, 15´ y 7,5´) no muestran significación estadística.

### 5.9.5.2. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de latencia.

**Tabla 50. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Ac. Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>MER0</b>	2°	-0,049	0,744	-0,048	0,752	-0,036	0,824	-0,039	0,797
	1°	-0,201	0,181	-0,074	0,624	0,172	0,282	-0,147	0,329
	30'	-0,148	0,325	-0,042	0,780	-0,020	0,901	-0,099	0,513
	15'	-0,079	0,598	-0,056	0,707	-0,078	0,624	-0,072	0,632
	7,5'	-0,092	0,546	-0,130	0,395	-0,075	0,646	-0,133	0,383
<b>MER1</b>	2°	-0,176	0,328	-0,110	0,543	0,015	0,945	-0,061	0,738
	1°	-0,144	0,422	-0,174	0,333	0,446*	0,025	0,007	0,968
	30'	0,012	0,948	0,017	0,926	0,334	0,102	0,064	0,724
	15'	-0,251	0,152	-0,186	0,293	0,478*	0,013	0,010	0,956
	7,5'	0,038	0,838	-0,174	0,342	0,321	0,127	-0,078	0,669
<b>MER2</b>	2°	0,102	0,481	-0,056	0,685	0,023	0,698	0,056	0,548
	1°	0,012	0,933	-0,053	0,356	0,256	0,254	0,008	0,458
	30'	0,087	0,572	-0,048	0,547	0,356	0,326	0,168	0,654
	15'	0,111	0,441	-0,012	0,452	0,548	0,458	0,024	0,326
	7,5'	-0,092	0,533	-0,015	0,365	0,298	0,269	0,158	0,478
<b>MER3</b>	2°	-0,094	0,541	-0,076	0,622	0,286	0,057	0,144	0,346
	1°	-0,013	0,933	0,165	0,280	0,478*	0,001	0,380*	0,010
	30'	-0,087	0,572	0,005	0,976	0,402*	0,006	0,280	0,062
	15'	0,115	0,447	0,121	0,422	0,407*	0,005	0,341*	0,020
	7,5'	-0,096	0,552	-0,195	0,204	-0,049	0,751	-0,014	0,929

MER0: Membrana de eritrocito sangre materna a los seis meses de gestación (captación). MER1: Membrana de eritrocito sangre materna en el momento del parto. MER2: Membrana de eritrocito sangre materna a los 2,5 meses del parto. MER3: Membrana de eritrocito sangre materna 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de DHA en membrana de eritrocitos de sangre materna en la muestra obtenida a los cuatro meses y

medio de vida del lactante y el promedio de latencia. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una latencia mayor pero únicamente en los estímulos de 1° y de 15’.

También es de destacar la tendencia a la correlación entre la concentración de EPA en la membrana de eritrocitos de sangre materna en la muestra del parto y de los 4 meses y medio de vida del lactante. Niveles altos de EPA se correlacionan con un tiempo de latencia más alto. La correlación es significativa, para los estímulos de 1°, 30’ y 15’ respecto a la muestra del parto, y para los de 1° y 15’ respecto a la muestra de los cuatro meses y medio.

El resto de correlaciones entre las concentraciones de ARA, DHA, EPA y ácido Nervónico en la membrana de eritrocitos de sangre materna, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30’, 15’ y 7,5’) no muestran significación estadística.

### 5.9.5.3. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el parto hasta el final de la intervención a los cuatro meses y medio de vida del lactante, y los promedios de latencia..

**Tabla 51. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>LMO</b>	2°	-0,125	0,451	-0,041	0,808	-0,095	0,699	0,071	0,673
	1°	0,008	0,964	0,096	0,568	0,216	0,375	0,296	0,071
	30’	-0,036	0,828	0,008	0,960	-0,103	0,676	0,210	0,206
	15’	-0,169	0,303	-0,089	0,588	-0,082	0,737	-0,095	0,566
	7,5’	-0,228	0,175	-0,027	0,874	0,097	0,702	-0,129	0,446

<b>LM1</b>	2°	0,064	0,683	0,117	0,456	0,195	0,211	0,105	0,503
	1°	-0,094	0,550	-0,053	0,734	0,249	0,108	0,238	0,125
	30'	-0,216	0,164	-0,078	0,618	0,187	0,231	0,089	0,570
	15'	-0,235	0,125	-0,080	0,608	0,061	0,695	0,058	0,710
	7,5'	-0,122	0,442	0,051	0,747	0,131	0,409	-0,003	0,987
<b>LM2</b>	2°	0,082	0,701	-0,021	0,457	0,159	0,325	0,210	0,365
	1°	0,180	0,411	-0,057	0,365	0,248	0,452	0,199	0,485
	30'	0,092	0,711	-0,023	0,478	0,199	0,562	0,159	0,586
	15'	0,114	0,651	0,045	0,398	0,158	0,485	0,098	0,658
	7,5'	0,024	0,903	0,051	0,685	0,114	0,399	0,008	0,478
<b>LM3</b>	2°	-0,094	0,678	-0,237	0,377	0,033	0,892	0,114	0,615
	1°	-0,179	0,426	-0,234	0,383	0,170	0,485	0,247	0,269
	30'	-0,075	0,741	-0,400	0,124	0,126	0,606	0,264	0,234
	15'	-0,102	0,650	-0,256	0,338	0,011	0,966	0,255	0,252
	7,5'	0,021	0,927	-0,189	0,499	0,041	0,871	0,183	0,428

*LM0 Leche materna. Calostro, LM1 Leche materna al mes de vida., LM2 Leche materna a los 2,5 meses de vida, LM3 Leche materna a los 4,5 meses de vida*

No se aprecian correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles en leche materna de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5').

#### **5.9.5.4. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes.**

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, DHA, EPA y ácido Nervónico en plasma de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de latencia.

**Tabla 52. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		.Ac. Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>SHVO</b>	2°	-0,137	0,424	0,250	0,141	-0,104	0,734	0,029	0,866
	1°	-0,175	0,307	0,257	0,131	0,005	0,209	0,022	0,899
	30'	-0,192	0,261	0,170	0,322	0,006	0,986	0,200	0,243
	15'	-0,169	0,317	0,225	0,181	-0,201	0,511	0,155	0,360
	7,5'	-0,163	0,349	0,031	0,861	-0,264	0,384	-0,013	0,939
<b>SHA</b>	2°	-0,055	0,833	0,145	0,58	-0,429	0,289	-0,387	0,124
	1°	-0,351	0,168	0,116	0,656	0	1	-0,222	0,392
	30'	-0,196	0,451	0,015	0,955	-0,429	0,289	-0,020	0,940
	15'	-0,141	0,589	0,075	0,775	-0,359	0,382	-0,140	0,593
	7,5'	-0,015	0,957	0,038	0,888	-0,881*	0,004	-0,335	0,204
<b>SH1</b>	2°	0,259	0,082	0,142	0,347	0,131	0,407	0,164	0,276
	1°	0,160	0,289	0,183	0,224	0,402*	0,008	0,301*	0,042
	30'	0,293*	0,048	0,216	0,149	0,311*	0,045	0,330*	0,025
	15'	0,342*	0,019	0,230	0,121	0,135	0,389	0,236	0,110
	7,5'	0,338*	0,023	0,179	0,241	0,042	0,793	0,064	0,674

*SHVO: Plasma vena cordón umbilical, SHA: Plasma arteria umbilical, SH1: Plasma hijo a los 2,5 meses de vida \*:significación estadística  $p < 0,05$*

Se observa correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ARA en el plasma de la muestra de los dos meses y medio de vida, y los promedios de latencia. Los niveles de ARA más elevados se asocian a una latencia mayor en el estímulo visual de 30', 15' y 7'5'.

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles en arteria umbilical de EPA y en la muestra de los dos meses y medio de vida, y los promedios de latencia. Los niveles de EPA más elevados se asocian a una latencia mayor en el estímulo visual de 7'5' para la muestra de arteria, y en los de 1° y de 30' para la otra muestra.

Respecto al DHA, se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles en la muestra de los dos meses y medio de vida y los promedios de latencia. Los

niveles de DHA más elevados se asocian a una latencia mayor en los estímulos visuales de 1° y de 30’.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos de ARA, DHA, EPA y ácido Nervónico en vena y arteria umbilical, así como a los dos meses y medio de vida de los lactantes, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30’, 15’ y 7,5’) no muestran significación estadística.

#### 5.9.5.5. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, DHA, EPA y ácido Nervónico en la membrana de eritrocitos de los lactantes.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, DHA, EPA y ácido Nervónico en la membrana de eritrocitos de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de latencia.

**Tabla 53. Correlación entre los promedios de latencia y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes.**

	Promedio latencia	ARA 20:4n-6		Ac. Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>VUER</b>	2°	-0,061	0,730	0,093	0,596	-0,040	0,823	-0,131	0,453
	1°	0,042	0,809	0,412*	0,014	0,278	0,118	-0,010	0,957
	30’	0,038	0,829	0,104	0,551	0,142	0,429	-0,029	0,868
	15’	-0,207	0,225	-0,004	0,982	0,056	0,752	-0,200	0,243
	7,5’	0,01	0,953	0,114	0,522	-0,042	0,818	-0,047	0,793
<b>AUER</b>	2°	0,053	0,794	0,156	0,438	0,001	0,997	0,014	0,945
	1°	0,191	0,339	0,371	0,057	0,268	0,196	0,165	0,410
	30’	-0,001	0,995	-0,044	0,826	0,262	0,206	0,002	0,993
	15’	0,234	0,239	0,249	0,211	0,230	0,269	0,310	0,116
	7,5’	0,006	0,977	0,070	0,739	0,264	0,212	0,122	0,561
<b>SH1ER</b>	2°	0,047	0,763	0,171	0,272	0,229	0,224	0,265	0,086
	1°	-0,089	0,572	-0,009	0,956	0,427*	0,019	0,206	0,186
	30’	0,069	0,660	0,136	0,384	0,366*	0,047	0,342*	0,025
	15’	0,093	0,549	0,114	0,463	0,356	0,049	0,181	0,24
	7,5’	0,272	0,078	0,276	0,073	-0,023	0,901	0,087	0,579

*VUER: Membrana de Eritrocitos de sangre vena umbilical. AUER: Membrana de Eritrocitos*

*de sangre de arteria umbilical. SHIER: Membrana de Eritrocitos de sangre del niño a los 2,5 meses. .\*:significación estadística  $p < 0,05$*

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de DHA en membrana de eritrocitos de los lactantes en la muestra de los dos meses y medio de vida y el promedio de latencia. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una latencia mayor pero únicamente en el estímulo de 30'.

Asímismo se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de EPA en la muestra de los dos meses y medio de vida, y los promedios de latencia. Los niveles de EPA más elevados se asocian a una latencia mayor en los estímulos visuales de 1° y 30'.

El nivel de ácido Nervónico en la vena umbilical se correlaciona positivamente con significación estadística con la latencia en el estímulo de 1°.

El resto de correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes, y el promedio de latencia en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

#### **5.9.6. Correlaciones entre los promedios de amplitud y los niveles de ácidos grasos maternos y de los lactantes.**

##### **5.9.6.1. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno.**

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de amplitud.



**Tabla 54. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma materno.**

	Promedio Amplitud	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>SMO</b>	2°	-0,059	0,691	-0,05	0,736	0,134	0,364	0,020	0,893
	1°	-0,117	0,429	-0,137	0,354	0,054	0,716	-0,034	0,819
	30'	-0,154	0,295	-0,163	0,267	0,134	0,364	-0,010	0,946
	15'	-0,164	0,259	-0,272	0,058	0,080	0,587	-0,140	0,337
	7,5'	-0,154	0,302	-0,257	0,081	0,067	0,656	-0,144	0,333
<b>SM1</b>	2°	-0,003	0,988	0,076	0,668	-0,095	0,605	-0,11	0,544
	1°	-0,111	0,532	0,079	0,655	-0,103	0,573	-0,384*	0,027
	30'	-0,066	0,713	0,153	0,387	0,052	0,777	0,169	0,347
	15'	0,162	0,352	0,108	0,537	-0,151	0,410	-0,073	0,681
	7,5'	0,019	0,916	0,021	0,908	0,259	0,159	0,182	0,310
<b>SM2</b>	2°	0,280	0,101	0,065	0,536	0,004	0,326	-0,026	0,658
	1°	0,19	0,127	0,009	0,489	0,142	0,458	-0,065	0,548
	30'	0,052	0,83	0,025	0,577	0,002	0,418	0,019	0,458
	15'	0,024	0,912	0,015	0,365	0,142	0,578	0,021	0,486
	7,5'	0,042	0,801	0,035	0,487	0,015	0,632	0,015	0,685
<b>SM3</b>	2°	0,301	0,05	-0,062	0,695	0,094	0,548	-0,037	0,815
	1°	0,220	0,156	0	0,998	-0,146	0,349	-0,039	0,802
	30'	-0,007	0,966	-0,078	0,618	0,126	0,419	0,026	0,869
	15'	0,011	0,942	-0,105	0,500	-0,059	0,703	-0,117	0,451
	7,5'	0,06	0,706	-0,041	0,797	-0,081	0,609	0,010	0,952

*SMO: Plasma materno a los seis meses de gestación (captación). SM1: Plasma materno en el momento del parto. SM2: Plasma materno a los 2,5 meses del parto. SM3: Plasma materno a los 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$*

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de DHA en las muestras de plasma materno en el parto, y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una amplitud menor pero únicamente en el estímulo de 1°.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos maternos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA maternos, y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

### 5.9.6.2. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el inicio de la intervención hasta 7 meses después, y los promedios de amplitud.

**Tabla 55. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de sangre materna.**

	Promedio Amplitud	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>MERO</b>	2°	0,107	0,479	0,189	0,208	0,047	0,769	0,158	0,295
	1°	0,066	0,663	0,116	0,444	0,036	0,824	0,098	0,517
	30'	0,154	0,358	0,145	0,336	-0,093	0,561	0,201	0,181
	15'	0,173	0,245	0,125	0,402	-0,254	0,104	0,169	0,257
	7,5'	0,124	0,414	0,072	0,640	-0,009	0,958	0,110	0,470
<b>MER1</b>	2°	0,046	0,797	0,533*	0,001	-0,232	0,265	-0,10	0,581
	1°	-0,029	0,871	0,673*	0	-0,382	0,060	-0,111	0,537
	30'	-0,242	0,174	0,411*	0,018	0,053	0,801	-0,206	0,251
	15'	-0,103	0,562	0,338	0,050	-0,319	0,112	-0,230	0,190
	7,5'	-0,247	0,173	0,382*	0,031	-0,217	0,310	-0,233	0,200
<b>MER2</b>	2°	0,115	0,448	0,234	0,301	-0,125	0,322	-0,156	0,455
	1°	0,170	0,261	0,325	0,651	-0,322	0,222	-0,256	0,552
	30'	0,142	0,360	0,322	0,306	0,036	0,236	-0,123	0,321
	15'	0,020	0,901	0,365	0,256	-0,265	0,365	-0,223	0,458
	7,5'	0,032	0,846	0,256	0,268	-0,326	0,266	-0,249	0,536
<b>MER3</b>	2°	-0,115	0,433	-0,058	0,707	-0,006	0,967	-0,132	0,387
	1°	-0,170	0,265	-0,058	0,703	-0,144	0,344	-0,135	0,376
	30'	-0,141	0,355	0,007	0,007	0,134	0,381	0,018	0,906
	15'	0,017	0,910	0,104	0,104	-0,033	0,830	0,058	0,702
	7,5'	-0,029	0,849	0,213	0,213	0,08	0,606	0,148	0,337

MERO: Membrana de eritrocito sangre materna a los seis meses de gestación (captación). MER1: Membrana de eritrocito sangre materna en el momento del parto. MER2: Membrana de eritrocito sangre materna a los 2,5 meses del parto. MER3: Membrana de eritrocito sangre materna 4,5 meses del parto. \*:significación estadística  $p < 0,05$

Se aprecia correlación significativamente estadística entre el nivel de ácido Nervónico en la membrana eritrocitaria materna en el momento del parto y el promedio de amplitud en los estímulos de 2°, 1° y 30'. Niveles más altos de ácido Nervónico se correlacionan con una amplitud mayor.

El resto de correlaciones entre los niveles plasmáticos maternos de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA maternos, y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados (2°, 1°, 30', 15' y 7,5') no muestran significación estadística.

**5.9.6.3. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, y ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna.**

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna, en las cuatro muestras obtenidas, desde el parto hasta el final de la intervención a los cuatro meses y medio de vida del lactante, y los promedios de amplitud.

**Tabla 56. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en leche materna.**

	Promedio Amplitud	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>LMO</b>	2°	0,066	0,695	0,157	0,347	0,075	0,759	-0,118	0,481
	1°	-0,063	0,708	-0,046	0,786	-0,016	0,949	-0,126	0,452
	30'	-0,108	0,519	-0,154	0,357	-0,217	0,373	-0,137	0,411
	15'	0,026	0,877	-0,120	0,465	-0,058	0,814	-0,254	0,118
	7,5'	0,068	0,689	-0,066	0,697	-0,022	0,932	0,010	0,954
<b>LM1</b>	2°	0,248	0,109	0,246	0,112	-0,106	0,497	0,027	0,863
	1°	0,144	0,799	0,065	0,678	0,010	0,949	0,074	0,638
	30'	0,101	0,521	0,026	0,867	-0,090	0,566	0,045	0,775
	15'	0,228	0,137	0,212	0,168	-0,077	0,618	0,080	0,604
	7,5'	0,101	0,526	0,054	0,733	-0,039	0,805	0,002	0,992

LM2	2°	0,042	0,850	0,123	0,115	0,026	0,356	0,055	0,568
	1°	0,140	0,501	0,066	0,256	-0,105	0,562	0,024	0,458
	30'	0,34	0,870	0,158	0,325	-0,058	0,125	0,065	0,636
	15'	0,134	0,570	0,187	0,562	-0,144	0,326	0,023	0,256
	7,5'	0,028	0,911	0,196	0,452	0,069	0,685	0,015	0,453
LM3	2°	0,026	0,909	0,076	0,778	0,014	0,955	-0,188	0,403
	1°	0,120	0,594	0,047	0,863	0,316	0,188	0,006	0,980
	30'	-0,003	0,895	0,118	0,664	-0,163	0,504	-0,336	0,126
	15'	-0,121	0,590	0,110	0,684	-0,151	0,537	-0,337	0,125
	7,5'	0,017	0,942	0,157	0,576	0,119	0,639	-0,105	0,650

LM0 Leche materna. Calostro.LM1 Leche materna al mes de vida. LM2. Muestra de leche materna a los 2,5 meses de vida.LM3 Leche materna a los 4,5 meses de vida

No se observan correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles en leche materna de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'.

#### 5.9.6.4. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes.

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre los niveles de ARA, DHA, EPA y ácido Nervónico en plasma de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de amplitud.

**Tabla 57. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en plasma de los lactantes.**

	Promedio Amplitud	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	P	Rho	p	Rho	p
SHV O	2°	0,048	0,782	0,164	0,340	-0,033	0,915	-0,151	0,380
	1°	-0,195	0,254	-0,023	0,893	-0,082	0,789	-0,262	0,123
	30'	-0,049	0,777	0,015	0,931	-0,104	0,734	-0,107	0,534
	15'	0,137	0,42	0,082	0,630	-0,264	0,384	-0,178	0,292
	7,5'	0,054	0,757	0,119	0,496	-0,330	0,271	-0,149	0,394

<b>SHAO</b>	2°	0,191	0,462	0,397	0,115	0,095	0,823	-0,260	0,314
	1°	-0,135	0,606	0,091	0,729	0,452	0,260	-0,189	0,468
	30'	-0,299	0,244	-0,147	0,573	0,381	0,352	-0,061	0,815
	15'	0,127	0,626	0,282	0,273	0,095	0,823	-0,272	0,291
	7,5'	-0,701	0,795	0,088	0,745	-0,524	0,183	-0,182	0,499
<b>SH1</b>	2°	0,036	0,812	0,033	0,827	-0,183	0,246	0,011	0,945
	1°	-0,096	0,526	0,080	0,599	-0,184	0,243	0,058	0,701
	30'	0,002	0,99	-0,007	0,962	0,101	0,525	0,135	0,370
	15'	-0,08	0,594	0,039	0,796	-0,140	0,372	0,020	0,892
	7,5'	-0,149	0,329	0,035	0,822	-0,074	0,646	0,071	0,644

*SHVO: Plasma vena cordón umbilical. SHAO: Plasma arteria cordón umbilical. SH1: Plasma hijo a los 2,5 meses de vida*

No se observan correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles en plasma de los lactantes, de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y el promedio de amplitud en los distintos estímulos visuales utilizados: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'.

#### **5.9.6.5. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes.**

En la siguiente tabla se muestran las correlaciones entre las concentraciones de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes, en las muestras obtenidas al nacimiento (arteria y vena umbilical) y a los dos meses y medio de vida, y los promedios de amplitud.

**Tabla 58. Correlación entre los promedios de amplitud y el nivel de ARA, ácido Nervónico, EPA y DHA en la membrana de eritrocitos de los lactantes.**

	Promedio Amplitud	ARA 20:4n-6		Acido Nervónico 24:1n-9		EPA 20:5n-3		DHA 22:6n-3	
		Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
<b>VUER</b>	2°	-0,182	0,296	-0,343*	0,043	-0,272	0,125	-0,283	0,099
	1°	-0,127	0,466	-0,136	0,436	0,010	0,956	-0,182	0,295
	30'	-0,062	0,725	-0,118	0,499	0,116	0,520	-0,176	0,312
	15'	-0,135	0,445	-0,223	0,191	-0,162	0,360	-0,197	0,248
	7,5'	-0,135	0,447	-0,177	0,317	-0,120	0,513	-0,207	0,239
<b>AUER</b>	2°	-0,141	0,483	0,185	0,356	-0,104	0,621	-0,330	0,093
	1°	-0,284	0,151	-0,043	0,831	-0,055	0,793	-0,474*	0,012
	30'	-0,092	0,647	-0,076	0,705	0,025	0,907	-0,195	0,33
	15'	-0,075	0,710	0,150	0,456	-0,065	0,759	-0,150	0,456
	7,5'	-0,305	0,139	-0,280	0,175	-0,256	0,228	-0,309	0,133
<b>SH1ER</b>	2°	-0,014	0,927	0,093	0,555	-0,081	0,670	0,111	0,480
	1°	-0,017	0,915	-0,026	0,871	0,042	0,825	0,054	0,732
	30'	-0,085	0,586	-0,043	0,785	-0,109	0,567	0,090	0,566
	15'	0,120	0,438	0,122	0,428	0,025	0,892	0,109	0,482
	7,5'	-0,089	0,571	-0,055	0,725	-0,208	0,261	0,050	0,752

*VUER: Membrana de Eritrocitos de sangre vena umbilical. AUER: Membrana de Eritrocitos de sangre arteria umbilical. SH1ER: Membrana de Eritrocitos de sangre del niño a los 2,5 meses.*

Se aprecia correlación estadísticamente significativa entre los niveles de DHA en membrana de eritrocitos de los lactantes en la arteria umbilical y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de DHA más elevado se asocia a una amplitud menor pero únicamente en el estímulo de 1°.

También se aprecia correlación entre los niveles de ácido Nervónico en membrana de eritrocitos de los lactantes en la muestra de vena umbilical y el promedio de amplitud. En este caso el nivel de ácido Nervónico más elevado se asocia a una amplitud menor

pero únicamente en el estímulo de 2°.

**5.10. Variación en los promedios de latencia entre los obtenidos a los dos meses y medio y a los 7 meses y medio.**

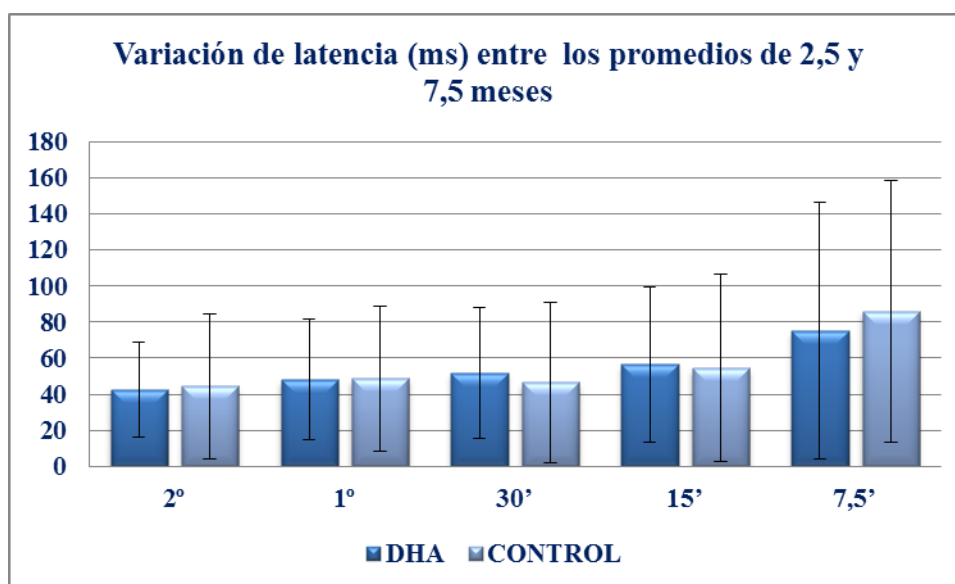
**5.10.1. Variación en los promedios de latencia entre los obtenidos a los dos meses y medio y a los 7 meses y medio. Diferencias entre grupo suplementado y control.**

Se determina la disminución de latencia entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, de modo comparativo entre el grupo suplementado y el grupo control

Los valores se muestran en la siguiente tabla

**Tabla 59. Variación de latencia (milisegundos) entre los promedios de 2,5 meses y 7,5 meses entre grupo suplementado y control.**

GRADOS	DHA	CONTROL	P
2°	42,790±26,262	44,560±40,144	0,862
1°	48,115±33,684	48,633±39,975	0,962
30'	51,843±36,005	46,645±44,478	0,664
15'	56,504±43,072	54,434±51,891	0,892
7,5'	74,975±71,178	86,001±72,307	0,631



**Figura 35. Variación de latencia (milisegundos) entre los promedios de 2,5 meses y 7,5 meses entre grupo suplementado y control.**

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre un grupo y otro respecto a la disminución del tiempo medio de latencia entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, en ninguno de los estímulos visuales: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'.

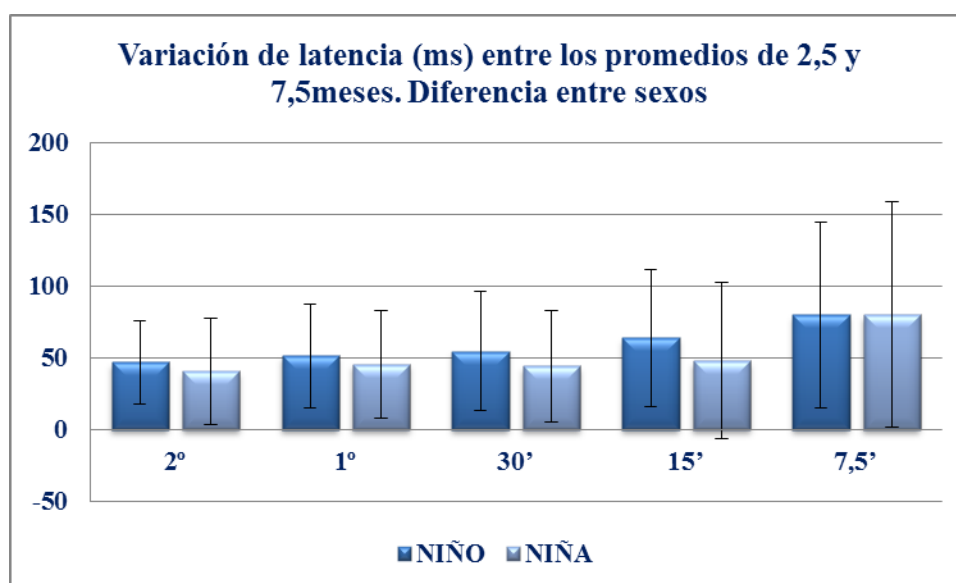
### 5.10.2. Variación en los promedios de latencia entre los obtenidos a los dos meses y medio y a los 7 meses y medio. Diferencias entre sexos.

Se determina la disminución de latencia entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, de modo comparativo entre el sexo masculino y femenino

Los valores se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 60. Variación de latencia (milisegundos) entre los promedios de 2,5 meses y 7,5 meses. Diferencias entre sexos.**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	46,821±29,002	40,452±37,398	0,522
1°	51,221±35,968	45,504±37,429	0,600
30'	54,507±41,276	44,207±38,712	0,387
15'	63,610±48,078	47,711±54,299	0,294
7,5'	79,810±64,900	80,065±78,287	0,991



**Figura 36. Variación de latencia (milisegundos) entre los promedios de 2,5 meses y 7,5 meses. Diferencias entre sexos.**



No se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre sexos respecto a la disminución del tiempo medio de latencia entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, en ninguno de los estímulos visuales: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'.

### **5.11. Variación en los promedios de amplitud entre los obtenidos a los dos meses y medio y a los 7 meses y medio.**

#### **5.11.1. Variación en los promedios de amplitud entre los obtenidos a los dos meses y medio y a los 7 meses y medio. Diferencias entre grupo suplementado y control.**

Se determina la disminución de latencia entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, de modo comparativo entre el grupo suplementado y el grupo control

Los valores se muestran en la siguiente tabla

**Tabla 61. Variación de amplitud (microvoltios) entre los promedios de 2,5 meses y 7,5 meses.**

<b>GRADOS</b>	<b>DHA</b>	<b>CONTROL</b>	<b>p</b>
2°	-2,9846	-2,1962	0,317
1°	-2,4596	-3,100	0,241
30'	0,8917	2,3988	0,290
15'	7,9549	10,5526	0,887
7,5'	9,6702	11,5806	0,525

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre un grupo y otro respecto a la variación de la amplitud media entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, en ninguno de los estímulos visuales: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'. Ante algunos de los estímulos visuales, la amplitud aumenta, mientras que en otros disminuye.

### 5.11.2. Variación en los promedios de amplitud entre los obtenidos a los dos meses y medio y a los 7 meses y medio. Diferencias entre sexos.

Se determina la disminución de latencia entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, de modo comparativo entre el sexo masculino y femenino

Los valores se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 62. Variación de amplitud (microvoltios) entre los promedios de 2,5 meses y 7,5 meses, diferencias entre sexos.**

GRADOS	NIÑO	NIÑA	P
2°	-1,3926	-3,8225	0,507
1°	0,9074	-6,4391	0,054
30'	1,4177	1,8072	0,887
15'	7,0674	11,2949	0,229
7,5'	9,5150	11,5433	0,302

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre un grupo y otro respecto a la variación de la amplitud media entre los valores obtenidos a los dos meses y medio y los obtenidos a los siete meses y medio, en ninguno de los estímulos visuales: 2°, 1°, 30', 15' y 7,5'. Ante algunos de los estímulos visuales, la amplitud aumenta, mientras que en otros disminuye. Aún así, en el estímulo de un grado la diferencia es casi significativa.

..



---

## **6. DISCUSSION**

---

---

---

## **6. DISCUSION.**

El presente trabajo pretende evaluar el efecto de la suplementación de la dieta materna con un compuesto lácteo enriquecido con ácidos grasos de cadena larga omega-3 (320 mg de DHA y 72 mg de EPA) durante el último trimestre de gestación y el periodo de la lactancia, sobre la agudeza visual de los lactantes y el desarrollo neurológico a lo largo del primer año de su vida.

Aporta algunas características que lo diferencian de otros ensayos con diseño similar.

Una de ellas es el hecho de que la dieta de las madres ha sido controlada por un nutricionista. Dicho nutricionista ha valorado individualmente la ingesta de las voluntarias al ser admitidas en el estudio y ha propuesto a las mismas una serie de recomendaciones encaminadas a adaptar su dieta a las pautas de la denominada dieta mediterránea. Entre las recomendaciones se incluía la del consumo de tres o cuatro raciones de pescado a la semana y la utilización habitual de aceite de oliva en la preparación de los alimentos. De hecho, se facilitó aceite de oliva a las voluntarias para que fuera el aceite predominantemente utilizado en su alimentación.

Con esta intervención se ha intentado corregir uno de los factores que pueden inducir confusión ya señalado por estudios de diseño similar. Esto es, la propia dieta de la mujer. En efecto, todos los estudios de una línea similar señalan el hecho de que son muchos los factores que modulan la dieta de la mujer durante la gestación y la lactancia, y esto se constituye como uno de los motivos por los que aún surgen dudas sobre el verdadero impacto de la suplementación, la duración de su efecto así como las dosis que se considerarían óptimas.

Otra característica a tener en cuenta es que el periodo de suplementación en nuestro ensayo se prolonga durante siete meses, comprende el último trimestre de gestación y finaliza a los cuatro meses y medio después del nacimiento. La mayoría de los ensayos suplementan o bien en la gestación o bien en la lactancia, pero sólo un reducido número de ensayos incluye ambos periodos, como se refleja en esta

publicación (140).

Y en este mismo contexto, señalar que las determinaciones realizadas para valorar los efectos de la intervención dietética y de la suplementación, permiten elaborar el perfil de transferencia de los ácidos grasos a los distintos tejidos ya que se ha hecho en distintos momentos del estudio de forma secuencial.

### **6.1. Efecto del DHA sobre el perfil de ácidos grasos de madres, hijos y leche materna.**

En la parte inicial de esta discusión se evalúa el impacto que esta suplementación ha tenido sobre los niveles de ácidos grasos en las gestantes, en la leche materna y en los lactantes. Esto es la base para la valoración de su influencia en la agudeza visual y el neurodesarrollo a medio plazo del niño.

Diversos ensayos en los últimos años han demostrado que la suplementación de la dieta de la gestante con ácidos grasos omega-3 modifica el perfil de ácidos grasos, tanto de la madre como del hijo (190,191).

Las dosis empleadas han sido variables en los diversos trabajos. Algunos de ellos con dosis similares a la empleada en este ensayo, han mostrado como aumentaba el porcentaje de DHA tanto en plasma materno en la semana 30 de gestación, como en plasma de vena umbilical al nacimiento, tras una fortificación con 500 miligramos diarios en la dieta de la gestante iniciada en la semana 22 de embarazo (180). En este trabajo la suplementación se realiza con una dosis media a través de un producto lácteo que contenía 320 mg de DHA y 72 mg de EPA.

La suplementación durante los primeros meses de lactancia, puede modificar el perfil de ácidos grasos tanto en la leche materna como en el plasma de los lactantes a los tres meses de vida, como se pone de manifiesto en este trabajo (136).

Del mismo modo, distintas publicaciones han mostrado como el plasma y la membrana eritrocitaria son muestras adecuadas para la valoración del perfil de ácidos grasos tal y

como se concluye en un metanálisis publicado en 2009 (192).

Nuestros grupos eran homogéneos al inicio de la intervención, y no se encontraron diferencias entre ambos, a pesar de que algunas publicaciones recientes sugieren que hasta en un 30% de la población europea pueden aparecer polimorfismos respecto al perfil de desaturasas que justifiquen diferencias individuales en el patrón de ácidos grasos de cadena larga (193).

La suplementación con aceite de pescado conteniendo DHA y EPA en este ensayo produjo unos efectos en cuanto al perfil de ácidos grasos en plasma materno a lo largo de los meses de intervención, similar a los comentados en la bibliografía.

En el momento del parto los cuatro ácidos grasos valorados han disminuido sus concentraciones en las muestras maternas tanto en plasma como en membrana eritrocitaria respecto a los valores iniciales. Este dato es congruente con la depleción que ocurre en el pool de ácidos grasos maternos por la acreción placentaria acelerada en el último trimestre del embarazo (27), si bien es cierto que respecto al ácido Nervónico, el EPA y el DHA lo han hecho significativamente menos en el grupo de intervención.

Al valorar los niveles de ácidos grasos en el plasma y membrana eritrocitaria de las muestras de cordón umbilical (arteria y vena) se comprueba como los niveles de EPA y DHA están incrementados de modo significativo en el grupo de intervención, como expresión del aporte placentario incrementado al feto en el último trimestre de embarazo. Este aporte es importante en el final del embarazo, pero aún mayor en el caso de las mujeres suplementadas (194).

El hecho de que el nivel de DHA se encuentre incrementado en el plasma de vena umbilical respecto al plasma materno al nacimiento indica un aporte preferencial de la madre al feto de este ácido graso. Este DHA es rápidamente incorporado a los tejidos fetales, tal y como se refleja en el hecho de que la concentración de DHA en plasma de arteria umbilical es inferior a la de vena umbilical. La incorporación tisular rápida justifica que no haya diferencias entre los niveles de DHA en las membranas de eritrocitos de las muestras de arteria y vena umbilical.



A diferencia de los datos aportados por otros estudios, el nivel de DHA materno disminuye en nuestro ensayo en el momento del parto, incluso en el grupo suplementado, al compararlo con el nivel de DHA en plasma materno al inicio de la intervención (136). En relación a este hallazgo, se podría argumentar que la dosis empleada en el presente ensayo ha sido una dosis moderada de DHA. Otra posible justificación podría estar en el tamaño muestral reducido. Por otra parte, en este estudio las madres fueron valoradas por un nutricionista como ya se ha comentado. Las pautas de nutrición fueron individualizadas para cada una de las voluntarias lo que podrían haber minimizado algunas diferencias entre los grupos.

Respecto al impacto de la suplementación en los meses de lactancia sobre una situación deficitaria de DHA en la madre en el momento del parto, se observó como en las determinaciones realizadas a los dos y cuatro meses y medio, las concentraciones de DHA en plasma materno aumentan paulatinamente a los niveles previos al inicio de la intervención. Y lo hacen de modo más rápido y consistente en el grupo suplementado, a pesar de la mayor excreción de DHA en la leche materna del grupo de intervención en todas las determinaciones. De manera que la suplementación ayuda a restablecer más eficazmente el estatus de DHA en las madres incluso aunque tienen una mayor pérdida a través de la leche materna. Otros trabajos ya han reflejado este hecho (195,196).

Estos datos apoyan que el hecho de que el estatus materno de DHA y el contenido del mismo en la leche materna dependen de su ingesta a través de la dieta.

No se apreció que la suplementación con DHA modificara los niveles de ácido araquidónico (ARA) en el plasma materno y la membrana de los eritrocitos de madres e hijos. Sin embargo, sí es cierto que las concentraciones observadas en el plasma de las madres del grupo control fueron siempre superiores a las del grupo de intervención.

Sí se encontraron diferencias en el plasma de vena umbilical respecto al nivel de ARA, con valores significativamente disminuidos en el grupo suplementado. Este resultado se ha señalado en otros trabajos en los que se ha apreciado que la suplementación durante el embarazo con dosis de DHA superiores a 200 mg diarios puede reducir los niveles fetales de ARA (88).

En cuanto a los los resultados relacionados en el ácido Nervónico, señalar que diversos estudios han destacado su importancia en el desarrollo de la sustancia blanca y mielina del feto y del lactante (197,117).

En los datos obtenidos se aprecia como en el plasma y eritrocitos de los lactantes a los dos meses y medio de vida, sus valores son significativamente más altos en el grupo de intervención.

En relación al contenido de DHA en la leche materna, las madres del grupo de intervención mostraron concentraciones más elevadas de DHA en todas las determinaciones realizadas. Este dato coincide por lo publicado en otros trabajos que habían encontrado resultados similares (6).

En la muestras de plasma y eritrocitos de los lactantes a los dos meses y medio de vida se comprueba como el grupo de intervención mantiene cifras significativamente más elevadas de DHA, hecho en el que ha tenido importancia el aporte incrementado en la leche materna.

Ya se ha definido con anterioridad como el ARA y el DHA pueden ser sintetizados a partir de sus precursores, el ácido Linoleico y el Alfa Linolénico mediante la acción de diversas desaturasas y elongasas. El feto tiene una actividad disminuida de estas enzimas, que no se incrementa hasta el quinto mes de vida, y por ese motivo es plenamente dependiente de la placenta, y posteriormente de la ingesta para obtener el ARA y DHA necesarios. La cantidad de ambos ácidos aportada por la leche materna puede variar en función de la dieta materna.

Este trabajo encuentra resultados semejantes al respecto. El plasma y la membrana de los eritrocitos de los hijos de madres suplementadas tienen concentraciones de DHA significativamente mayores que los del grupo control. Por el contrario, las concentraciones del ARA son mayores en el grupo control.

En resumen, nuestro ensayo muestra que la suplementación con una dosis diaria de 320 mg de DHA durante el último trimestre de la gestación y los primeros meses de

lactancia mejora el estatus de DHA de las madres, minimizando la disminución de niveles habitual en el momento del parto. Asimismo esta intervención permite que la leche materna tenga una mayor concentración de DHA. Todo esto tiene como expresión que tanto el recién nacido en el momento del parto como el lactante en el seguimiento de los primeros meses de vida muestren valores superiores de DHA respecto al grupo control, cuyas madres no fueron suplementadas.

## **6.2. Efecto del DHA en la somatometría del recién nacido.**

Los estudios publicados hasta la fecha ponen de manifiesto, la importancia que tiene la ingesta de ácidos grasos de cadena larga omega-3 en la mujer gestante en algunos aspectos tanto de la gestación como del propio recién nacido. Así, se han descrito sus implicaciones en la duración del embarazo (198,199), y en el peso de recién nacido (200,201).

Los resultados del presente estudio no muestran diferencias entre el grupo suplementado y grupo control en los valores de peso, talla y perímetro cefálico de los recién nacidos. Tampoco se encontraron diferencias entre grupos en otros aspectos perinatales como duración de la gestación. Estos hallazgos coinciden con los recogidos en otros trabajos como el de Miles y colaboradores (186) que no encontró diferencias entre grupos en los valores somatométricos del recién nacido. Ramakrishnan y colaboradores en el año 2010 (202) que suplementaron a mujeres gestantes con 400 mg tampoco encontraron diferencias en cuanto a la duración del embarazo y tampoco en el peso, talla y perímetro craneal del recién nacido. Un trabajo australiano del año 2010 (139), suplementó con 800 mg de DHA al día a las gestantes durante la segunda mitad del embarazo y encuentra aumento de un día en la duración de la gestación y mayor aumento de peso de los niños del grupo suplementado.

Sin embargo si existen algunos estudios como el Carlson y colaboradores en

2013 (203) que han mostrado como la suplementación durante la gestación con DHA, además de un incremento en el contenido en fosfolípidos de las membranas del eritrocito materno y sangre del cordón umbilical, se asocia a modificaciones en parámetros perinatales como son incremento en la duración de la gestación y respecto a la somatometría de los recién nacidos, mayor peso, talla y perímetro cefálico (204,205) en los hijos de madres que han recibido suplementación con DHA durante la gestación.

En el presente trabajo también se ha analizado la evolución y variación en los valores de somatometría del niño (peso, talla y perímetro cefálico) a lo largo del primer año de vida. Las curvas de crecimiento que describen ambos grupos de pacientes son similares no encontrándose diferencias estadísticamente significativas.

En resumen podemos concluir que la intervención dietética propuesta en nuestro estudio no tiene efectos perjudiciales ni en la duración de la gestación ni tampoco en el peso, talla y perímetro craneal de los recién nacidos.

### **6.3. Efecto del DHA sobre el neurodesarrollo al año de vida.**

Numerosos trabajos y ensayos muestran como el DHA tienen un papel fundamental en la maduración y crecimiento cerebrales en un momento clave de su desarrollo como es la segunda mitad de la gestación y los primeros meses de vida. Este es el motivo por el que hace ya más de dos décadas la idea de suplementar la dieta de las gestantes y lactantes, o bien las fórmulas de los lactantes se propuso como una posible mejora para la salud del recién nacido. El fundamento de dicha suplementación se basa en mejorar la cantidad de DHA recibida por el feto y el lactante, y de esa manera beneficiar al niño mejorando su desarrollo mental y psicomotor.

Diversos estudios han evaluado el desarrollo neurológico con diferentes escalas,

escogidas en función del momento madurativo y edad del niño a la hora de ser valorado. Algunas de ellas son: el Test de Bayley en sus versiones II y III, el Test de Brunetz-Lezine, la Escala de MacArthur, el Coeficiente de Inteligencia de Stanford Binet, el Test de Hempel, la Escala de Touwen, o el Test de Sherrads. Se han empleado en edades que oscilan desde los seis meses a los nueve años.

La evidencia de la que se dispone actualmente en la literatura científica, y los metanálisis y revisiones sistemáticas de la misma, indican que no hay un claro efecto beneficioso de la suplementación con DHA sobre el neurodesarrollo de los lactantes (140).

Algunos trabajos han detectado mejorías consistentes en el desarrollo a medio plazo como Makrides y colaboradores (75), que encuentran diferencias favorables al grupo suplementado cuando se valora el desarrollo cognitivo a los cuatro años de vida. Similares hallazgos encontraron Birch y colaboradores en la escala de desarrollo mental valorada a los 18 meses de vida (164).

Frente a estos estudios con un número importante de pacientes, y bien diseñados, otros trabajos de muy buena calidad no han conseguido obtener resultados similares (206,207,208, 209,210).

Los datos obtenidos en nuestro trabajo están en línea con lo publicado. Se aplicó el Test de Bayley en su versión II al año de vida y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos, ni en la escala de desarrollo mental (IDM), ni en la de desarrollo psicomotor (IDP). Sí se aprecia una tendencia a mejor puntuación en ambas escalas en el grupo suplementado, pero sin significación estadística. Los valores globales son superiores en la IDP respecto a la IDM en ambos grupos. Esto era un hecho reflejado en otras publicaciones, en las que algunos autores sugerían que un adecuado desarrollo psicomotor era indispensable para el establecimiento de las funciones superiores (211).

Del mismo modo se trataron de correlacionar los puntajes de ambas escalas con

los valores de los distintos ácidos grasos ARA, EPA, DHA y ácido Nervónico en las muestras obtenidas tanto en las madres, como en los hijos como en la leche materna.

En las muestras maternas únicamente se encontró correlación negativa entre el IDM y el ácido Nervónico plasmático en el momento del parto.

En las muestras de los hijos se observó correlación negativa entre los niveles de ARA en plasma y en membrana de eritrocito a los dos meses y medio de vida.

En las muestras de leche se apreció correlación positiva entre el nivel de ARA a los dos meses y medio y la IDP.

En relación a la correlación encontrada con el ARA cabe hacer alguna consideración; Un mayor aporte de ARA durante la lactancia, asociado a mayores niveles plasmáticos y en la membrana de los lactantes del mismo, podría ser menos beneficioso desde el punto de vista del neurodesarrollo. Sin embargo el grupo control, que tiene niveles de ARA más elevados en todas las muestras, no muestra resultados estadísticamente significativos peores en neurodesarrollo.

Otros trabajos han mostrado como la suplementación con DHA durante el periodo de lactancia puede alterar la relación entre ácidos grasos omega-6 y omega-3 en el plasma de los niños, disminuyendo la misma (212).

Se propone la relación 4:1 (213) como la más adecuada para el mejor neurodesarrollo. En nuestro grupo suplementado esta relación era cercana a 6:1 y en el control 8,5:1. Este dato podría enlazar con nuestra correlación negativa con el ARA plasmático de los niños a los dos meses y medio de vida.

Esta correlación se ha apreciado en otro ensayo de Dunstan y colaboradores publicado en 2008 (214). Su suplementación fue a una dosis considerablemente más alta que la empleada en nuestro estudio, 2200 mg de DHA y 1100 mg de EPA desde la semana 20 de gestación hasta el parto. Por otra parte, la valoración del neurodesarrollo se realizó a los dos años y medio de vida. También encontraron correlación positiva con los niveles de EPA y DHA al nacimiento, correlaciones que no apreciamos en nuestro trabajo. Es posible que no encontráramos esta correlación por la dosis más baja empleada en nuestro ensayo. Aunque también podría ser un dato a considerar el que la correlación

con el ARA se establece a los dos meses y medio de vida, es decir aunque nuestra dosis es inferior, dado que se mantiene durante la lactancia, el efecto acumulativo termina por establecer correlación.

Respecto al momento en cual valorar el neurodesarrollo, es bien sabido que a medio y largo plazo pueden aparecer factores confundentes que influyan en el mismo más allá de la suplementación con DHA. El adecuado estado nutricional y el nivel sociocultural familiar pueden influir en los resultados de los tests de neurodesarrollo realizados en los primeros años de la infancia. Sin embargo no debemos olvidar que han sido precisamente en los tests practicados a los 4, 7 o 9 años de vida cuando los ensayos que han detectado diferencias, lo han hecho realmente. En nuestro ensayo no realizamos seguimiento a medio o largo plazo.

No apreciamos otras correlaciones significativas con el resto de parámetros de ácidos grasos. Sin embargo otros trabajos han encontrado correlación con el nivel de DHA en plasma de vena y arteria umbilical y el desarrollo neurológico a los 5 años de vida. (133).

### **6.3 Efecto del DHA sobre la agudeza visual.**

Diversos trabajos han mostrado efecto beneficioso en a la agudeza visual al alimentar a los lactantes con fórmulas suplementadas con DHA. En un reciente metanálisis de 2013 que incluye 19 ensayos tanto de niños prematuros como recién nacidos a término, se concluye que la suplementación de las fórmulas adaptadas con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga mejora la agudeza visual en el primer año de vida. Los autores prestan especial atención a las cantidades de DHA aportadas en los distintos ensayos, y la conclusión es que los efectos más favorables ocurren cuando la concentración de DHA en la fórmula está por encima del 0'34%, similar a la de la leche

materna (169).

Cuando se valoran los ensayos en que la suplementación se ha realizado durante el embarazo o la lactancia, en niños que recibían leche materna, los resultados no son tan favorables. En otra revisión de 2013, los datos referentes a agudeza visual no pudieron analizarse conjuntamente porque existía gran variabilidad entre los tests empleados y las edades a las que se realizaban. De seis ensayos valorados, cuatro no mostraron diferencias entre los grupos, y los dos en los que se apreciaba alguna ventaja en el grupo suplementado mostraban limitaciones metodológicas y en el diseño. Los autores concluyen que dado el reducido número de ensayos, el tiempo escaso de seguimiento y los hallazgos contradictorios, no se dispone de suficiente información para aclarar el efecto de la suplementación en el embarazo y la lactancia sobre la agudeza visual (73).

Precisamente en este contexto desarrollamos nuestro ensayo. Se trata de suplementar durante el último trimestre del embarazo y los primeros meses de lactancia con una dosis moderada de DHA y EPA.

Nuestra valoración de agudeza visual se realizó mediante potenciales evocados visuales, el método que parece ser más sensible para detectar los beneficios derivados de la suplementación con ácidos grasos omega-3(215).

Nuestros resultados no muestran diferencias significativas en cuanto al promedio de latencia entre los dos grupos en ninguno de los ángulos de estimulación, ni en la valoración de dos meses y medio ni en la de siete y medio. La hipótesis inicial era que el suplemento de DHA podría mejorar la transmisión de la señal nerviosa producida por los estímulos visuales por los distintos mecanismos ya mencionados, favoreciendo globalmente la vía visual.

Sí se aprecia una leve tendencia a que la latencia sea inferior en el grupo suplementado, como expresión de una mejor transmisión de la señal a través del nervio óptico, pero de modo no significativo.

Respecto a los promedios de amplitud detectados en nuestra serie, no



encontramos significación estadística en las diferencias entre los dos grupos, ni a los dos ni a los siete meses y medio. Es cierto que en el ángulo de estimulación de 1° a los dos meses y medio sí hubo diferencias significativas entre los grupos, pero dado que se trata de un dato aislado que no se repite en el resto de los ángulos de estimulación, no expresa una tendencia consistente.

Al no haber diferencias significativas entre los dos grupos, se valoró si aparecían diferencias en cuanto a latencia y amplitud entre varones y hembras, independientemente de si habían sido suplementados o no. Algunos trabajos habían señalado la existencia de diferencias en cuanto al desarrollo neurológico entre niños y niñas (216,217) y también diferencias en los valores de latencia de los PEV (218).

En relación a este aspecto, se ha argumentado que los niños prematuros tienen niveles más bajos de IGF1 que las niñas, lo que podría asociarse con retinopatía y menor agudeza visual (219)

También se ha comprobado como la niñas tienen una tasa de producción endógena de DHA a partir del ácido Linolénico superior a la de los niños, lo que podría atenuar el déficit de DHA de los recién nacidos prematuros (220).

En los pacientes de nuestro ensayo no apreciamos diferencias globales entre los varones y hembras de toda la serie, ni en latencia ni en amplitud en ninguna de las dos determinaciones, a los dos y a los siete meses y medio.

Asimismo comparamos los promedios de latencia y amplitud entre varones y hembras, pero dentro de cada grupo, control y suplementado. Tampoco encontramos diferencias significativas entre sexos en ninguno los parámetros mencionados, y en ninguno de los ángulos de estimulación.

Valoramos la posibilidad de establecer distintas correlaciones entre nuestros datos de los PEV y diversos parámetros valorados. Algunos trabajos habían señalado que existe correlación entre la latencia o la amplitud de los PEV y el perímetro craneal (221,222).

En este sentido, entre los promedios de latencia en los dos momentos de valoración y el perímetro craneal de los lactantes no se encontró ninguna correlación.

Respecto a las correlaciones con los ácidos grasos en las distintas muestras analizadas, los datos se refieren a continuación.

El promedio de latencia se correlaciona negativamente a los dos meses y medio con el nivel de ácido Nervónico en plasma materno en el parto, en todos los ángulos de estimulación. Este hallazgo se repite en el plasma de la vena umbilical, donde hay correlación negativa con el ácido Nervónico y el DHA, pero solo en dos ángulos de estimulación. También se aprecia correlación negativa con los niveles de EPA en leche materna a los cuatro meses del nacimiento.

En nuestra serie hemos observado un incremento del ácido Nervónico en el plasma de la madre al nacimiento y también en el plasma de vena umbilical en el grupo suplementado. Este incremento es atribuible a la intervención y no ha sido comunicado en otros ensayos similares. La importancia de este ácido es alta en la biosíntesis de la vaina de mielina axonal y podríamos sugerir que los niveles elevados en madre e hijo favorecen un mejor funcionamiento global de la vía visual en base a los promedios de latencia observados más bajos (223,224).

Se piensa que los niveles de ácido Nervónico puedan reflejar la maduración cerebral y hay estudios que correlacionan sus concentraciones en membrana eritrocitaria con la esfingomielina cerebral (225).

La valoración de la latencia a los siete meses y medio no permite correlaciones significativas con ninguno de los parámetros de ácidos grasos. La correlación con el ácido Nervónico apreciada a los dos meses y medio desaparece. Tan sólo hay correlación positiva con el valor de EPA en plasma materno, leche y en plasma de los niños, pero no en todos los ángulos de estimulación, y en general de modo poco robusto.

Respecto a las correlaciones entre los promedios de amplitud y los diversos niveles de ácidos grasos en las muestras analizadas, los resultados se refieren a

continuación.

Se aprecia correlación positiva entre la amplitud a los siete meses y medio y los niveles de ácido Nervónico en la membrana de eritrocitos maternos en el momento del nacimiento, en todos los ángulos de estimulación. En el resto de los datos de ácidos grasos registrados, no apreciamos correlaciones consistentes. Puntualmente se aprecian algunas estadísticamente significativas, pero que no se repiten en todos los ángulos de estimulación y que en general parecen poco robustas.

En general, nuestros resultados están en consonancia con los de algunos de los ensayos más referidos en la literatura. No encontramos un beneficio en cuanto a la latencia y la amplitud de los PEV en los niños cuyas madres recibieron suplementación durante la gestación y la lactancia (140,167,226,227).

---

## **7. CONCLUSIONES**

---

---

---

## 7. Conclusiones

La administración de un suplemento con DHA y EPA (320 mg y 72 mg diarios respectivamente) a la gestante en forma de preparado lácteo con aceite de pescado, en el último trimestre del embarazo y en los primeros meses de lactancia, es efectiva para mejorar el estatus de DHA tanto de las madres como de los hijos:

- Incrementa las concentraciones plasmáticas y en membrana de eritrocitos maternos
- Incrementa las concentraciones en leche materna.
- Incrementa las concentraciones plasmáticas y en la membrana eritrocitaria de los niños.

La administración de un suplemento con DHA y EPA (320 mg y 72 mg diarios respectivamente) a las gestantes no mejora el neurodesarrollo de los hijos, valorado mediante la aplicación de las dos escalas, IDM e IDP, del test de Bayley versión 2 al año de vida.

La administración de un suplemento con DHA y EPA (320 mg y 72 mg diarios respectivamente) a las gestantes no mejora la función visual de los hijos, valorada mediante la medición de los parámetros de latencia y amplitud en los Potenciales Evocados Visuales realizados a los dos meses y medio y siete meses y medio de vida.

La correlación negativa detectada entre los promedios de latencia y los niveles plasmáticos maternos de ácido Nervónico, más elevados en el grupo suplementado, permite sugerir un papel positivo del mismo en la función global visual del lactante.

---

---

---

## **8. BIBLIOGRAFIA**

---





---

## 8.BIBLIOGRAFIA

1. Abedi E, Sahari MA. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Sci Nutr* 2014;2:443-463.
2. Burr GO, Burr MM. A new deficiency disease produced by rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem* 1929; 82: 345-367.
3. Burr GO, Burr MM. On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition. *J Biol Chem* 1930; 86:345-367.
4. Jeffcoat TR. The biosynthesis of unsaturated fatty acids and its control in mammalian liver. *Essays Biochem* 1979; 15:1-36.
5. Doughman SD, Krupanidhi S, Sanjeevi CB. Omega-3 fatty acids for nutrition and medicine: considering microalgae oil as a vegetarian source of EPA and DHA. *Curr Diabetes Rev* 2007; 3:198-203.
6. Williams CM, Burdge G. Long-chain n-3 PUFA: plant v. marine sources. *Proc Nutr Soc* 2006; 65:42-50.
7. Spector AA. Essentiality of fatty acids. *Lipids* 1999; 34 Suppl:S1-S3.
8. Castuma JC, Brenner RR. Specificity of  $\Delta$ -6 desaturase. Effect of chain length and number of doubled bonds. *Adv Exp Biol & Med* 1977; 83:123-131.
9. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA Journal* 2012; 10:2815-2863.

10. Valenzuela R, Tapia G. Ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Rev Chil Nutr* 2011; 38:365-367.

11. Kimura S, Chiang M-T, Fujimoto H. Effects of eicosapentaenoic acid and soybean protein on plasma cholesterol, blood pressure and platelet aggregation on stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Monograph on Atheros* 1990; 16:26-35.

12. Seabert TA, Pal S, Pinet BM, Haman F, Robidoux MA, Imbeault P. Elevated contaminants contrasted with potential benefits of omega-3 fatty acids in wild food consumers of two remote first nations communities in northern Ontario, Canada. *PLoS One* 2014; 5 9(3):e90351.

13. Nostbakken OJ, Bredal IL, Olsvik PA, Huang TS, Torstensen BE. Effect of marine omega 3 fatty acids on methylmercury-induced toxicity in fish and mammalian cells in vitro. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012:417-652.

14. Myers GJ, Davidson PW, Shamlaye CF, Axtell CD, Cernichiari E, Choisy O. Effects of prenatal methylmercury exposure from a high fish diet on developmental milestones in the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology* 1997; 18:819-829.

15. Davidson PW, Myers GJ, Cox C, Axtell C, Shamlaye C, Sloane-Reeves J. Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles. *Child Development Study. JAMA* 1998; 280:701-707.

16. Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* 1997; 19:417-428.

17. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Mundial de la Salud. Riesgos y Beneficios del Consumo de Pescado. Informe del grupo de expertos FAO/OMS. Ginebra, Suiza: 2011.

18. Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos. Declaración de los beneficios del consumo de pescado y marisco comparado con el riesgo de metilmercurio contenido en el pescado y marisco. Informe de un grupo científico de la EFSA. Parma, Italia: EFSA. EFSA Journal 2015; 13(1):3982-4018.

19. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Mundial de la Salud. Dietary intake of inorganic mercury. Evaluation of certain food additives and contaminants. Informe del Grupo de Expertos en Aditivos Alimentarios. Italia: 2010.

20. Comisión técnica de contaminantes de la cadena alimentaria de la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA). Dictamen sobre el mercurio y el metilmercurio en los alimentos. Informe de un grupo científico de la EFSA. Italia: EFSA; 2004.

21. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Cadena Alimentaria. Gestión de riesgos químicos. Mercurio. Informe Técnico. España. Febrero 2015.

22. Kohler A, Sarkkinen E, Tapola N, Niskanen T, Bruheim I. Bioavailability of fatty acids from krill oil, krill meal and fish oil in healthy subjects-a randomized, single-dose, cross-over trial. *Lipids Health Dis* 2015; 14:19.

23. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Evaluación nutricional de la dieta española. Energía y macronutrientes. Sobre datos de la Encuesta Nacional de la Ingesta Dietética (ENIDE). 2014.

24. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to docosahexaenoic acid (DHA) , eicosapentaenoic acid (EPA) and brain, eye and nerve development (ID 501,513,540), maintenance of normal brain functions (ID 497, 501,510,513,519,521,534,540,688,1323,1360,4294), maintenance of normal vision(ID 508, 510,513,519,529,540,688,2905,4294), maintenance of normal cardiac function (ID510, 688, 1360)”maternal health; pregnancy and nursing” (ID514),

“to fulfil increased omega-3 fatty acid need during pregnancy” (ID539), “skin and digestive tract epithelial cells maintenance” (ID525), enhancement of mood (ID536), “membranes cell structure” (ID4295) “anti-inflammatory action” (ID4688) and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID4719) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2011;9(4):2078-2108.

25. Dyerberg J., Bang HO, Hjorne N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr* 1975; 28: 958-966.

26. Kim DM, Schemee J, Lee CS, Eastman A, Ross JS, Thomas WA. Comparison of effects of fish oil and corn oil supplements on hyperlipidemic diet induced atherogenesis in swine. *Atherosclerosis* 1991; 89:191-201.

27. Larqué E, Gil-Sanchez A, Prieto-Sanchez ME, Koletzko B. Omega 3 fatty acids, gestation and pregnancy outcomes. *Br. J. Nutr.* 2012;107:S77-S84.

28. Gorjao R, Azevedo-Martins AK, Rodrigues HG, Abdulkader F, Miranda AM, Procopio J. Comparative effects of DHA and EPA on cell function. *Pharmacol Ther* 2009; 122:56-64.

29. Onuki Y, Morishita M, Chiba Y, Tokiwa S, Takayama K. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid induce changes in the physical properties of a lipid bilayer model membrane. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2006; 54:68-71.

30. Ehringer W, Belcher D, Wassall SR, Stillwell W. A comparison of the effects of linolenic (18:3 omega 3) and docosahexaenoic (22:6 omega 3) acids on phospholipid bilayers. *Chem Phys Lipids* 1990; 54:79-88.

31. McKarney C, Everard M, N'Diaye T. Omega-3 fatty acids (from fish oils) for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(4):CD002201.

32. Gorjao R, Hirabara SM, de Lima TM, Cury-Boaventura MF, Curi R. Regulation of interleukin-2 signaling by fatty acids in human lymphocytes. *J Lipid Res*

2007; 48:2009-2019.

33. Verlengia R, Gorjao R, Kanunfre CC, Bordin S, Martins De LT, Martins EF. Comparative effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on proliferation, cytokine production, and pleiotropic gene expression in Jurkat cells. *J Nutr Biochem* 2004; 15:657-665.

34. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 75:197-202.

35. Nosova EV, Conte MS, Grenon SM. Advancing beyond the "heart- healthy diet" for peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 2015; 61:265-274.

36. Carrero JJ, Grimble RF. Does nutrition have a role in peripheral vascular disease? *Br J Nutr* 2006; 95:217-229.

37. Deckelbaum RJ, Calder PC. Dietary n-3 and n-6 fatty acids: are there 'bad' polyunsaturated fatty acids? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13:123-124.

38. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. *Biochimie* 2009;9:791-795.

39. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Willett WC, Rimm EB. Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. *Circulation* 2003; 108:155-160.

40. Borges MC, Santos FM, Telles RW, Correia MI, Lanna CC. Polyunsaturated omega-3 fatty acids and systemic lupus erythematosus: what do we know?. *Rev Bras Reumatol* 2014; 54:459-466.

41. Kohler A, Sarkkinen E, Tapola N, Le QH, Feugier N, Cugnet C. Moderate oral supplementation with docosahexaenoic acid improves platelet function and oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Thromb Haemost* 2015;114. PMID:

25832443.

42. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O, Koller E. Autoxidation of human low density lipoprotein loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res* 1987; 28:495-509.

43. Gil-Campos M, Dalmau SJ. Importance of docosahexaenoic acid (DHA): Functions and recommendations for its ingestion in infants. *An Pediatr (Barc)* 2010; 73:142-148.

44. Ochoa JJ, Ramirez-Tortosa MC, Quiles JL, Palomino N, Robles R, Mataix J, Huertas JR. Oxidative stress in erythrocytes from premature and full-term infants during their first 72 h of life. *Free Radic Res* 2003; 37(3):317-322.

45. Ochoa JJ, Contreras-Chova F, Munoz S, Araujo-Nepomuceno E, Bonillo A, Molina-Carballo A, et al. Fluidity and oxidative stress in erythrocytes from very low birth weight infants during their first 7 days of life. *Free Radic Res* 2007; 41:1035-1040.

46. Garrel C, Alessandri JM, Guesnet P, Al-Gubory KH. Omega-3 fatty acids enhance mitochondrial superoxide dismutase activity in rat organs during post-natal development. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44:123-131.

47. Garcia-Rodriguez CE, Mesa MD, Olza J, Vlachava M, Kremmyda LS, Diaper ND. Does consumption of two portions of salmon per week enhance the antioxidant defense system in pregnant women? *Antioxid Redox Signal* 2012; 16:1401- 1406.

48. Morita I, Saito Y, Chang WC, Murota S. Effects of purified EPA or ARA metabolism in cultured murine aortic smooth muscle cells, vessel, walls and platelet. *Lipids* 1984; 18:42-49.

49. Ellulu MS, Khaza'ai H, Abed Y, Rahmat A, Ismail P, Ranneh Y. Role of fish oil in human health and possible mechanism to reduce the inflammation. *Inflammopharmacology* 2015; 23:79-89.

50. Carrero JJ, Martin-Bautista E, Baró L, Fonollá J, Jimenez J, Boza JJ, López-Huertas E. Cardiovascular effects of omega-3-fatty acids and alternatives to increase their intake. *Nutr Hosp* 2005; 20:63-69.
51. Pirillo A, Catapano AL. Update on the management of severe hypertriglyceridemia-focus on free fatty acid forms of omega-3. *Drug Des Devel Ther* 2015; 9:2129-2137.
52. Von Schacky C, Fischer S, Weber PC. Long-term effects of dietary marine omega-3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosapentaenoic formation in humans. *J Clin Invest* 1985; 76:1626-1631.
53. Harris WS, Dayspring TD, Moran TJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new developments and applications. *Postgrad Med* 2013; 125:100-113.
54. Weintraub H. Update on marine omega-3 fatty acids: management of dyslipidemia and current omega-3 treatment options. *Atherosclerosis* 2013; 230:381-389.
55. Weintraub HS. Overview of prescription omega-3 fatty acid products for hypertriglyceridemia. *Postgrad Med* 2014; 126:7-18.
56. Carrero JJ, Grimble RF. Does nutrition have a role in peripheral vascular disease? *Br J Nutr* 2006; 95:217-229.
57. Calder PC. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clin Sci (Lond)* 2004; 107:1-11.
58. McKarney C, Everard M, N'Diaye T. Omega-3 fatty acids (from fish oils) for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(4):CD002201.
59. Wang H, Khor TO, Saw CL, Lin W, Wu T, Huang Y. Role of Nrf2 in suppressing LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages by polyunsaturated



fatty acids docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. *Mol Pharm* 2010; 7:2185-2193.

60. Farinotti M, Vacchi L, Simi S, Di PC, Brait L, Filippini G. Dietary interventions for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;12:CD004192.

61. Pedotti R, Farinotti M, Falcone C, Borgonovo L, Confalonieri P, Campanella A, Mantegazza R, Pastorello E, Filippini G. Allergy and multiple sclerosis: a population-based case-control study. *Mult Scler.* 2009 ;15(8):899-906.

62. Grimstad T, Berge RK, Bohov P, Skorve J, Goransson L, Omdal R. Salmon diet in patients with active ulcerative colitis reduced the simple clinical colitis activity index and increased the anti-inflammatory fatty acid index--a pilot study. *Scand J Clin Lab Invest* 2011; 71:68-73.

63. Hartweg J, Perera R, Montori V, Dinneen S, Neil HA, Farmer A. Omega- 3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(1):CD003205.

64. Mocellin MC, Camargo CQ, Nunes EA, Fiates GM, Trindade EB. A systematic review and meta-analysis of the n-3 polyunsaturated fatty acids effects on inflammatory markers in colorectal cancer. *Clin Nutr* 2015; 29: 123-125.

65. de Aguiar SJ, de Souza FM, Waitzberg DL. Omega-3 supplements for patients in chemotherapy and/or radiotherapy: A systematic review. *Clin Nutr* 2015; 34:359-366.

66. Laviano A, Rianda S, Molfino A, Rossi FF. Omega-3 fatty acids in cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; 16:156-161.

67. Merendino N, Costantini L, Manzi L, Molinari R, D'Eliseo D, Velotti F. Dietary omega -3 polyunsaturated fatty acid DHA: a potential adjuvant in the treatment of cancer. *Biomed Res Int* 2013; 2013:310186.

68. Jing K, Wu T, Lim K. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2013; 13:1162-1177.

69. Giorlandino C, Giannarelli D. Effect of vaginally administered DHA fatty acids on pregnancy outcome in high risk pregnancies for preterm delivery: a double blinded randomised controlled trial. *J Prenat Med* 2013; 7:42-45.

70. Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics* 2003; 111:e39-e44.

71. Helland IB, Smith L, Blomen B, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Effect of supplementing pregnant and lactating mothers with n-3 very-long-chain fatty acids on children's IQ and body mass index at 7 years of age. *Pediatrics* 2008; 122:e472-e479.

72. Hurtado JA, Iznola C, Pena M, Ruiz J, Pena-Quintana L, Kajarabille N, Rodriguez-Santana Y, Sanjurjo P, Aldámiz-Echevarría L, Ochoa J, Lara-Villoslada F. Effects of Maternal Omega-3 Supplementation on Fatty Acids and on Visual and Cognitive Development: A Randomized Trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 61: 472-480.

73. Gould JF, Smithers LG, Makrides M. The effect of maternal omega-3 (n-3) LCPUFA supplementation during pregnancy on early childhood cognitive and visual development: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2013; 97:531-544.

74. Meldrum S, Dunstan JA, Foster JK, Simmer K, Prescott SL. Maternal fish oil supplementation in pregnancy: a 12 year follow-up of a randomised controlled trial. *Nutrients* 2015; 7:2061-2067.

75. Makrides M, Gould JF, Gawlik NR, Yelland LN, Smithers LG, Anderson PJ. Four-year follow-up of children born to women in a randomized trial of prenatal DHA

supplementation. *JAMA* 2014; 311:1802-1804.

76. Berghaus TM, Demmelmair H, Koletzko B. Essential fatty acids and their long-chain polyunsaturated metabolites in maternal and cord plasma triglycerides during late gestation. *Biol Neonate* 2000; 77:96-100.

77. Decsi T, Campoy C, Koletzko B. Effect of N-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy: the Nuheal trial. *Adv Exp Med Biol* 2005;569:109-113.

78. Hawkes JS, Bryan DL, James MJ, Gibson RA. Cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, TGF-beta1, and TGF-beta2) and prostaglandin E2 in human milk during the first three months postpartum. *Pediatr Res* 1999; 46:194-199.

79. Urwin HJ, Miles EA, Noakes PS, Kremmyda LS, Vlachava M, Diaper ND. Salmon consumption during pregnancy alters fatty acid composition and secretory IgA concentration in human breast milk. *J Nutr* 2012; 142:1603-1610.

80. Sherry CL, Oliver JS, Marriage BJ. Docosahexaenoic acid supplementation in lactating women increases breast milk and plasma docosahexaenoic acid concentrations and alters infant omega6:3fatty acid ratio. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2015; 95 :63-69.

81. Beaudry M, Dufour R, Marcoux S. Relation between infant feeding and infections during the first six months of life. *J Pediatr* 1995; 126:191-197.

82. Hanson LA. Human milk and host defence: immediate and long-term effects. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88:42-46.

83. Koletzko B, Boey CC, Campoy C, Carlson SE, Chang N, Guillermo-Tuazon MA, Joshi S, Prell C, Quak SH, Sjarif DR, Su Y, Supapannachart, Yamashiro Y, Osendarp SJ. Current information and Asian perspectives on long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation, and infancy: systematic review and practice recommendations from an early nutrition academy workshop. *Ann Nutr Metab*

2014; 65:49-80.

84. 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.

85. Granot E, Jakobovich E, Rabinowitz R, Levy P, Schlesinger M. DHA supplementation during pregnancy and lactation affects infants' cellular but not humoral immune response. *Mediators Inflamm* 2011; 2011:493925.

86. Jensen CL, Maude M, Anderson RE, Heird WC. Effect of docosahexaenoic acid supplementation of lactating women on the fatty acid composition of breast milk lipids and maternal and infant plasma phospholipids. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:292S-299S.

87. Innis SM. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. *Am J Clin Nutr* 2014; 99:734S-741S.

88. Escolano-Margarit MV, Campoy C, Ramirez-Tortosa MC, Demmelmair H, Miranda MT, Gil A, Decsi T, Koletzko BV. Effects of fish oil supplementation on the fatty acid profile in erythrocyte membrane and plasma phospholipids of pregnant women and their offspring: a randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2013; 109:1647-1656.

89. Much D, Brunner S, Vollhardt C, Schmid D, Sedlmeier EM, Bruderl M. Effect of dietary intervention to reduce the n-6/n-3 fatty acid ratio on maternal and fetal fatty acid profile and its relation to offspring growth and body composition at 1 year of age. *Eur J Clin Nutr* 2013; 67:282-288.

90. González-Rodríguez LG, Aparicio A, Lopez-Sobaler AM, Ortega RM. Omega 3 and omega 6 fatty acids intake and dietary sources in a representative sample of Spanish adults. *Int J Vitam Nutr Res* 2013; 83:36-47.

91. Rogers LK, Valentine CJ, Keim SA. DHA supplementation: current implications in pregnancy and childhood. *Pharmacol Res* 2013; 70:13-19.
92. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1467S-1476S.
93. Christian P. Maternal nutrition, health, and survival. *Nutr Rev* 2002; 60:S59-S63.
94. Koletzko B, Cetin I, Brenna JT. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *Br J Nutr* 2007; 98:873-877.
95. Ikemoto A, Kobayashi T, Watanabe S, Okuyama H. Membrane fatty acid modifications of PC12 cells by arachidonate or docosahexaenoate affect neurite outgrowth but not norepinephrine release. *Neurochem Res*. 1997 Jun; 22 (6):671-678.
96. Connor WE, Neuringer M, Lin DS. Dietary effects on brain fatty acid composition: the reversibility of n-3 fatty acid deficiency and turnover of docosahexaenoic acid in the brain, erythrocytes, and plasma of rhesus monkeys. *J Lipid Res* 1990; 31: 237-247.
97. Huang KP, Huang FL. How is protein kinase C activated in CNS. *Neurochem Int* 1993; 22: 417-433.
98. Ikemoto A, Nitta A, Furukawa S, Ohishi M, Nakamura A, Fujii Y, Okuyama H. Dietary n-3 fatty acid deficiency decreases nerve growth factor content in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 2000; 285: 99-102.
99. Yavin E, Brand A, Green P. Docosahexaenoic acid abundance in the brain: a biodevice to combat oxidative stress. *Nutr Neurosci* 2002; 5: 149-157.
100. Fedorova I, Hussein N, Baumann MH, Di Martino C, Salem N. An n-3 fatty acid deficiency impairs rat spatial learning in the Barnes maze. *Behav Neurosci* 2009;

123: 196-205.

101. Madore C, Nadjar A, Delpech JC, Sere A, Aubert A, Portal C, Joffre C, Layé S. Nutritional n-3 PUFAs deficiency during perinatal periods alters brain innate immune system and neuronal plasticity associated genes. *Brain Behav Immun* 2014; 41: 22-31.

102. Salvati S, Natali F, Attorri L, Di Benedetto R, Leonardi F, Di Biase A, Ferri F, Fortuna S, Lorenzini P, Sanchez M, Ricceri L, Vitelli L. Eicosapentaenoic acid stimulates the expression of myelin proteins in rat brain. *J Neurosci Res* 2008; 86: 776-784.

103. Church MW, Jen KL, Dowhan LM, Adams BR, Hotra JW. Excess and deficient omega-3 fatty acid during pregnancy and lactation cause impaired neural transmission in rat pups. *Neurotoxicol Teratol* 2008; 30: 107-117.

104. Church MW, Jen KL, Jackson DA, Adams BR, Hotra JW. Abnormal neurological responses in young adult offspring caused by excess omega-3 fatty acid (fish oil) consumption by the mother during pregnancy and lactation. *Neurotoxicol Teratol* 2009; 31: 26-33.

105. Auestad N, Innis SM. Dietary n-3 fatty acid restriction during gestation in rats: neuronal cell body and growth-cone fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(1 Suppl):312S-4S.

106. Sarkadi-Nagy E, Wijendran V, Diao GY, Chao AC, Hsieh AT, Turpeinen A, Lawrence P, Nathanielsz PW, Brenna JT. Formula feeding potentiates docosahexaenoic and arachidonic acid biosynthesis in term and preterm baboon neonates. *J Lipid Res* 2004; 45: 71-80.

107. Reisbick S, Neuringer M, Gohl E, Wald R, Anderson GJ. Visual attention in infant monkeys: effects of dietary fatty acids and age. *Dev Psychol* 1997; 33: 387-395.

108. Reisbick S, Neuringer M, Hasnain R, Connor WE. Polydipsia in rhesus monkeys deficient in omega-3 fatty acids. *Physiol Behav* 1990; 47: 315-323.

109. Grayson DS, Kroenke CD, Neuringer M, Fair DA. Dietary omega-3 fatty acids modulate large-scale systems organization in the rhesus macaque brain. *J Neurosci* 2014; 34: 2065-2074.

110. 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. *Early Hum Dev.* 1980;4:121-129.

111. Dubois J, Dehaene-Lambertz G, Kulikova S, Poupon C, Hüppi PS, Hertz-Pannier L. The early development of brain white matter: a review of imaging studies in fetuses, newborns and infants. *Neuroscience* 2014;276:48-71.

112. Clandinin MT, Chappell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Extrauterine fatty acid accretion in infant brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum Dev.* 1980;4:131-138.

113. Giménez M, Junqué C, Vendrell P, Narberhaus A, Bargalló N, Botet F, Mercader JM. Abnormal orbitofrontal development due to prematurity. *Neurology.* 2006;67:1818-1822

114. Stewart AL, Rifkin L, Amess PN, Kirkbride V, Townsend JP, Miller DH, Lewis SW, Kingsley DP, Moseley IF, Foster O. Brain structure and neurocognitive and behavioural function in adolescents who were born very preterm. *Lancet.* 1999;353:1653-1657.

115. Constable RT, Ment LR, Vohr BR, Kesler SR, Fulbright RK, Lacadie C, Delancy S, Katz KH, Schneider KC, Schafer RJ. Prematurely born children demonstrate white matter microstructural differences at 12 years of age, relative to term control subjects: an investigation of group and gender effects. *Pediatrics.* 2008;121:306-316.

116. Costello EJ, Worthman C, Erkanli A, Angold A. Prediction from low birth weight to female adolescent depression: a test of competing hypotheses. *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64:338-344.
117. Amminger GP, Schäfer MR, Klier CM, Slavik JM, Holzer I, Holub M, Goldstone S, Whitford TJ, McGorry PD, Berk M. Decreased nervonic acid levels in erythrocyte membranes predict psychosis in help-seeking ultra-high-risk individuals. *Mol Psychiatry*. 2012 ;17(12):1150-1152.
- 118 . Babin F, Sarda P, Limasset B, Descomps B, Rieu D, Mendy F, Crastes de Paulet A. Nervonic acid in red blood cells sphingomyelin in premature infants: an index of myelin maturation?. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013; 89 (4): 241-244.
119. Ntoumani E, Strandvik B, Sabel KG. Nervonic acid is much lower in donor milk than in milk from mothers delivering premature infants--of neglected importance? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013;89(4):241-4.
120. Carlson SE, Werkman SH. A randomized trial of visual attention of preterm infants fed docosahexaenoic acid until two months. *Lipids* 1996; 31: 85-90.
121. Simmer K, Schulzke SM, Patole S. Long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;(1):CD000375.
122. Lapillonne A, Groh-Wargo S, Gonzalez CH, Uauy R. Lipid needs of preterm infants: updated recommendations. *J Pediatr*. 2013;162:S37-S47.
123. Qawasmi A, Landeros-Weisenberger A, Leckman JF, Bloch MH. Meta-analysis of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of formula and infant cognition. *Pediatrics*. 2012;129(6):1141-9.
124. Lucas A, Lockton S, Davies PS. Randomised trial of a ready-to-feed compared with powdered formula. *Arch Dis Child*. 1992;67(7):935-9.



125. Carlson SE. Lessons learned from randomizing infants to marine oil-supplemented formulas in nutrition trials. *J Pediatr.* 1994;125(5 Pt 2):S33-8.

126. O'Connor DL, Hall R, Adamkin D, Auestad N, Castillo M, Connor WE, Connor SL, Fitzgerald K, Groh-Wargo S, Hartmann EE, Jacobs J, Janowsky J, Lucas A, Margeson D, Mena P, Neuringer M, Nesin M, Singer L, Stephenson T, Szabo J, Zemon V. Ross Preterm Lipid Study. Growth and development in preterm infants fed long-chain polyunsaturated fatty acids: a prospective, randomized controlled trial. *Pediatrics.* 2001;108(2):359-71

127. Auestad N, Halter R, Hall RT, Blatter M, Bogle ML, Burks W, Erickson JR, Fitzgerald KM, Dobson V, Innis SM, Singer LT, Montalto MB, Jacobs JR, Qiu W, Bornstein MH. Growth and development in term infants fed long-chain polyunsaturated fatty acids: a double-masked, randomized, parallel, prospective, multivariate study. *Pediatrics.* 2001;108(2):372-81

128. Agostoni C, Trojan S, Bellù R, Riva E, Giovannini M. Neurodevelopmental quotient of healthy term infants at 4 months and feeding practice: the role of long-chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatr Res.* 1995;38 (2):262-6.

129. Willatts P, Forsyth JS, DiModugno MK, Varma S, Colvin M. Influence of long-chain polyunsaturated fatty acids on infant cognitive function. *Lipids.* 1998;33(10):973-80.

130. Makrides M, Gibson RA. Long-chain polyunsaturated fatty acid requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr.* 2000;71 (1 Suppl):307S-11S.

131. Birch EE, Hoffman DR, Castañeda YS, Fawcett SL, Birch DG, Uauy RD. A randomized controlled trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of formula in term infants after weaning at 6 wk of age. *Am J Clin Nutr.* 2002;75 (3):570-80.

132. Colombo J, Carlson SE, Cheatham CL, Shaddy DJ, Kerling E H, Thodosoff J M ,

Gustafson KM, Brezn C. Long-term effects of LCPUFA supplementation on childhood cognitive outcomes.. *Am J Clin Nutr* 2013;98:403–12.

133. Escolano-Margarit MV, Ramos R, Beyer J, Csábi G, Parrilla-Roure M, Cruz F, Perez-Garcia M, Hadders-Algra M, Gil A, Decsi T, Koletzko BV, Campoy C. Prenatal DHA status and neurological outcome in children at age 5.5 years are positively associated. *J Nutr*. 2011 Jun;141(6):1216-23

134. Isaacs EB, Fischl BR, Quinn BT, Chong WK, Gadian DG, Lucas A. Impact of breast milk on intelligence quotient, brain size, and white matter development. *Pediatr Res* 2010; 67: 357-362.

135. McNamara RK, Vannest JJ, Valentine CJ. Role of perinatal long-chain omega-3 fatty acids in cortical circuit maturation: Mechanisms . *World J Psychiatr* 2015 22; 5(1): 15-34.

136. Helland IB, Saugstad OD, Saarem K, van Houwelingen AC, Nylander G, Drevon CA. Supplementation of n-3 fatty acids during pregnancy and lactation reduces maternal plasma lipid levels and provides DHA to the infants. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2006;19:397–406.

137. Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics*. 2003;111:e39–44.

138 Judge MP, Harel O, Lammi-Keefe CJ. Maternal consumption of a docosahexaenoic acid-containing functional food during pregnancy: benefit for infant performance on problem-solving but not on recognition memory tasks at age 9 mo. *Am J Clin Nutr*. 2007;85:1572–1577.

139. Makrides M, Gibson RA, McPhee AJ, Yelland L, Quinlivan J, Ryan P; DOMInO Investigative Team. Effect of DHA supplementation during pregnancy on maternal depression and neurodevelopment of young children: a randomized controlled trial.

JAMA. 2010;304(15):1675-83.

140. Campoy C, Escolano-Margarit MV, Anjos T, Szajewska H, Uauy R. Omega 3 fatty acids on child growth, visual acuity and neurodevelopment. *Br J Nutr.* 2012 Jun;107 Suppl 2:S85-106.

141. Pavlova M., Sokolov AN, Krageloh-Mann, I. Visual navigation in adolescents with early periventricular lesions: knowing where, but not getting there. *Cerebral Cortex* 2007;17(2):363–369.

142. Anderson P.J, Doyle L.W. Neurobehavioral outcomes of school-age children born extremely low birth weight or very preterm in the 1990s. *Journal of the American Medical Association* 2003; 289: 3264–3272.

143. Cooke RW, Foulder-Hughes, L, Newsham, D, Clarke, D. Ophthalmic impairment at 7 years of age in children born very preterm. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition* 2004; 89: 249–253.

144. Ricci D, Romeo DM, Gallini F, Groppo M, Cesarini L, Pisoni S. Early visual assessment in preterm infants with and without brain lesions: correlation with visual and neurodevelopmental outcome at 12 months. *Early Human Development* 2011;87: 177–182.

145. Anderson RE, Chen H, Wang N, Stinson A. The accretion of docosahexaenoic acid in the retina. *World Rev Nutr Diet.* 1994;75:124-7.

146. Rotstein NP, Avetdaffio MI, Barrantes FJ, Politi LE. Docosahexaenoic Acid Is Required for the Survival of Rat Retinal Photoreceptors, *J. Neurochem.* 1996;66: 1851-1859.

147. Borisa J , Jensenb B, Dalby Salviga J , Niels J. A Randomized Controlled Trial of the Effect of Fish Oil supplementation in Late Pregnancy and Early Lactation on the n-

3 Fatty Acid Content in Human Breast Milk. *Lipids* 2004;39:1191–1196

148. Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L, Luck S. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal omega 3 fatty acid deficiency on retina and brain in Rhesus monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1986;83: 4021–4025.

149. Rotstein NP, Politi LE, Aveldano MI. Docosahexaenoic acid promotes differentiation of developing photoreceptors in culture. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 1998;39:2750–2758.

150. Volpe JJ. The encephalopathy of prematurity–brain injury and impaired brain development inextricably intertwined. *Seminars in Pediatric Neurology* 2009; 16: 167–178.

151. Norcia AM, Tyler CW, Hamer RD. Development of contrast sensitivity in the human infant. *Vision Research* 1990;30: 1475–1486.

152. Connor WE, Lowensohn R, Hatcher L. Increased docosahexaenoic acid levels in human newborn infants by administration of sardines and fish oil during pregnancy. *Lipids*. 1998;31 Suppl:S183-7

153. Hamilton R, Bradnam MS, Dudgeon J, Mactier H. Maturation of rod function in preterm infants with and without retinopathy of prematurity. *Journal of Pediatrics* 2008; 153:605–611.

154. Shimazawa M, Nakajima Y, Mashima Y, Hara H. Docosahexaenoic acid (DHA) has neuroprotective effects against oxidative stress in retinal ganglion cells. *Brain Research* 2009; 1251:269–275.

155. Rogers LK, Valentine CJ, Keim SA. DHA Supplementation:Current Implications

in *Pregnancy and Childhood*. *Pharmacol Res*. 2013; 70(1): 13–19.

156. Birch EE, Birch D, Petrig B, Uauy R. D. Retinal and cortical function of infants at 36 and 57 weeks post-conception. *Clinical Vision Science*. 1990; 5: 363–373.

157. Faldella G, Govoni M, Alessandrini R, Marchiani E, Salvioli GP, Biagi PL, Spano C. Visual evoked potentials and dietary long chain polyunsaturated fatty acids in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1996 ;75(2):F108-12.

158. Carlson SE, Werkman SH, Rhodes PG, Tolley EA. Visual-acuity development in healthy preterm infants: effect of marine-oil supplementation. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1993;58: 35-42.

159. Carlson SE, Werkman SH, Tolley EA. Effect of long-chain n-3 fatty acid supplementation on visual acuity and growth of preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1996; 63: 687–697.

160 San Giovanni JP, Berkey CS, Dwyer JT, Colditz GA. Dietary essential fatty acids, long-chain polyunsaturated fatty acids, and visual resolution acuity in healthy fullterm infants: a systematic review. *Early Hum Dev*. 2000; 57(3):165-88.

161. Carlson SE, Ford AJ, Werkman SH, Peeples JM, Koo WW. Visual acuity and fatty acid status of term infants fed human milk and formulas with and without docosahexaenoate and arachidonate from egg yolk lecithin. *Pediatric Research*. 1996; 39: 882–888.

162. Birch EE1, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatr Res*. 1998 ;44(2):201-9.

163. Auestad N, Montalto MB, Hall RT, Fitzgerald KM, Wheeler RE, Connor WE.

Visual acuity, erythrocyte fatty acid composition, and growth in term infants fed formulas with long chain polyunsaturated fatty acids for one year. Ross Pediatric Lipid Study. *Pediatric Research*. 1997;41:1-10.

164. Birch EE, Carlson SE, Hoffman DR, Fitzgerald-Gustafson KM, Fu VLN, Drover JR, Castañeda YS, Minns L, Wheaton DKH, Mundy D, Marunycz J, Diersen-Schade DA. The DIAMOND (DHA Intake And Measurement Of Neural Development) Study: a double-masked, randomized controlled clinical trial of the maturation of infant visual acuity as a function of the dietary level of docosahexaenoic acid. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:848–59.

165. Smuts CM, Borod E, Peeples JM, Carlson SE. High DHA eggs: feasibility as a means to enhance circulating DHA in mother and infant. *Lipids* 2003;38: 407–414.

166. Lauritzen L, Jørgensen MH, Mikkelsen TB, Skovgaard IM, Straarup EM, Olsen SF, Høy CE, Michaelsen KF. Maternal fish oil supplementation in lactation: effect on visual acuity and n-3 fatty acid content of infant erythrocytes. *Lipids*. 2004 ;39(3):195-206.

167. Smithers LG, Gibson RA, Makrides M. Maternal supplementation with docosahexaenoic acid during pregnancy does not affect early visual development in the infant: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2011;93:1293-1299.

168. Stein AD, Wang M, Rivera JA, Martore R, Ramakrishnan U. Auditory- and Visual-Evoked Potentials in Mexican Infants Are Not Affected by Maternal Supplementation with 400 mg/d Docosahexaenoic Acid in the Second Half of Pregnancy<sup>1–4</sup>. *J. Nutr.* 2012; 142: 1577–1581.

169. Qawasmi A, Landeros- Weisenberger A, Bloch MH. Meta- analysis of LCPUFA Supplementation of Infant Formula and Visual Acuity *Pediatrics* 2013;131:e262–e272.

170. Plendl H, Paulus W, Roberts IG, Bötzel K, Towell A, Pitman JR, Scherg M, Halliday AM. The time course and location of cerebral evoked activity associated with the processing of colour stimuli in man. *Neurosci Lett.* 1993 ; 5;150(1):9-12.

171. Sokol S, Moskowitz A, McCormack G. Infant VEP and preferential looking acuity measured with phase alternating gratings. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992; 33(11):3156-61.

172. McCulloch DL, Orbach H, Skarf B. Maturation of the pattern-reversal VEP in human infants: a theoretical framework. *Vision Res.* 1999; 39(22):3673-80.

173. Sokol S, Hansen VC, Moskowitz A, Greenfield P, Towle VL. Evoked potential and preferential looking estimates of visual acuity in pediatric patients. *Ophthalmology.* 1983 ;90(5):552-62.

174. Goldberg MC, Maurer D, Lewis TL, Brent HP. The influence of binocular visualdeprivation on the development of visual-spatial attention. *Dev Neuropsychol.* 2001;19(1):53-81.

175. Ferster D. A comparison of binocular depth mechanisms in areas 17 and 18 of the cat visual cortex. *J Physiol.* 1981;311:623-55.

176. Makrides M, Neumann MA, Jeffrey B, Lien EL, Gibson RA. A randomized trial of different ratios of linoleic to alpha-linolenic acid in the diet of term infants:effects on visual function and growth. *Am J Clin Nutr.* 2000 ;71(1):120-9.

177. Wagnanski-Jaffe T, Panton CM, Buncic JR, Westall CA. Paradoxical robust visual evoked potentials in young patients with cortical blindness. *Doc Ophthalmol.* 2009;119(2):101-7.

178. Westall CA, Ainsworth JR, Buncic JR. Which ocular and neurologic conditionscause disparate results in visual acuity scores recorded with visually evokedpotential and teller acuity cards? *J AAPOS.* 2000; 4(5):295-301.

179. Roy MS, Barsoum-Homsy M, Orquin J, Benoit J. Maturation of binocular pattern visual evoked potentials in normal full-term and preterm infants from 1 to 6 months of age. *Pediatr Res.* 1995;37(2):140-4.

180 Krauss-Etschmann S, Shadid R, Campoy C, et al. Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1392-1400.

181. Courville AB, Keplinger MR, Judge MP, et al. Plasma or red blood cell phospholipids can be used to assess docosahexaenoic acid status in women during pregnancy. *Nutr Res* 2009;29:151-155

182. Laasonen M, Erkkilä AT, Isotalo E, et al. Serum lipid fatty acids and temporal processing acuity in children with oral clefts. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006;74:263-270.

183. Amminger GP, Schäfer MR, Klier CM, et al. Decreased nervonic acid levels in erythrocyte membranes predict psychosis in help-seeking ultra-high-risk individuals. *Mol Psychiatry* 2012;17:1150-1152.

184. Campoy C, Escolano-Margarit MV, Ramos R, Parrilla-Roure M, Csábi G, Beyer J, Ramirez-Tortosa MC, Molloy AM, Decsi T, Koletzko BV. Effects of prenatal fish-oil and 5-methyltetrahydrofolate supplementation on cognitive development of children at 6.5 y of age. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(6 Suppl):1880S-1888S.

185. Parra-Cabrera S, Stein AD, Wang M, Martorell R, Rivera J, Ramakrishnan U. Dietary intakes of polyunsaturated fatty acids among pregnant Mexican women. *Matern Child Nutr* 2011;7:140-147.

186. Miles EA, Noakes PS, Kremmyda LS, Vlachava M, Diaper ND, Rosenlund G, Urwin H, Yaqoob P, Rossary A, Farges MC, Vasson MP, Liaset B, Frøyland L, Helmersson J, Basu S, Garcia E, Olza J, Mesa MD, Aguilera CM, Gil A, Robinson SM,



Inskip HM, Godfrey KM, Calder PC. The Salmon in Pregnancy Study: study design, subject characteristics, maternal fish and marine n-3 fatty acid intake, and marine n-3 fatty acid status in maternal and umbilical cord blood. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(6 Suppl):1986S-1992S.

187. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Mundial de la Salud. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Informe de un Grupo Científico de la FAO/OMS. Ginebra: OMS; 2010. FAO Food and Nutrition Paper No. 91.

188. Lepage G, Roy CC. Direct trans esterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 1986;27:114-120

189. Harding GF, Odom JV, Spileers W. Standard for visual evoked potentials 1995. The International Society for Clinical Electrophysiology of Vision. *Vision Res* 1996;36:3567-3572.

190. van Houwelingen AC, Sorensen JD, Hornstra G, Simonis MM, Boris J, Olsen SF. Essential fatty acid status in neonates after fish-oil supplementation during late pregnancy. *Br J Nutr* 1995; 74:723-731.

191. von Houwelingen AC, Badart-Smook A, Hornstra G. Some aspects of neonatal essential fatty acid status are altered by linoleic acid supplementation of women during pregnancy. *J Nutr* 1995; 125:2822-2830.

192. Fekete K, Marosvolgyi T, Jakobik V, Decsi T. Methods of assessment of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:2070S-2084S.

193. Koletzko B, Lattka E, Zeilinger S, Illig T, Steer C. Genetic variants of the fatty acid desaturase gene cluster predict amounts of red blood cell docosahexaenoic and other polyunsaturated fatty acids in pregnant women: findings from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Am J Clin Nutr.* 2011 Jan;93(1):211-219.

194. Larque E, Krauss-Etschmann S, Campoy C, Hartl D, Linde J, Klingler M, et al.

---

Docosahexaenoic acid supply in pregnancy affects placental expression of fatty acid transport proteins. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:853-861.

195. Marc I, Plourde M, Lucas M, Sterescu A, Piedboeuf B, Dufresne A. Early docosahexaenoic acid supplementation of mothers during lactation leads to high plasma concentrations in very preterm infants. *J Nutr* 2011; 141:231-236.

196. Dunstan JA, Mitoulas LR, Dixon G, Doherty DA, Hartmann PE, Simmer K, et al. The effects of fish oil supplementation in pregnancy on breast milk fatty acid composition over the course of lactation: a randomized controlled trial. *Pediatr Res* 2007; 62:689-694.

197. Babin F, Sarda P, Limasset B, Descomps B, Rieu D, Mendy F, et al. Nervonic acid in red blood cell sphingomyelin in premature infants: an index of myelin maturation? *Lipids* 1993; 28:627-630.

198. Olsen SF, Secher NJ. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. *BMJ* 2002; 324:447.

199. Olsen SF, Sørensen JD, Secher NJ, Hedegaard M, Henriksen TB, Hansen HS, Grant A. Randomised controlled trial of effect of fish-oil supplementation on pregnancy duration. *Lancet* 1992; 339:1003-1007.

200. Dhobale MV, Wadhvani N, Mehendale SS, Pisal HR, Joshi SR. Reduced levels of placental long chain polyunsaturated fatty acids in preterm deliveries. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2011; 85:149-153

201. Schulzke SM, Patole SK, Simmer K. Long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(2):CD000375.

202. Ramakrishnan U, Stein AD, Parra-Cabrera S, Wang M, Imhoff-Kunsch B, Juárez-Márquez S, Rivera J, Martorell R. Effects of docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy on gestational age and size at birth: randomized, double-blind, placebo- controlled trial in Mexico. *Food Nutr Bull* 2010; 31:S108-S116.

203. Carlson SE, Colombo J, Gajewski BJ, Gustafson KM, Mundy D, Yeast J, et al. DHA supplementation and pregnancy outcomes. *Am J Clin Nutr* 2013; 97:808- 815.

204. Salvig JD, Lamont RF. Evidence regarding an effect of marine n-3 fatty acids on preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011; 90:825-838.

205. Szajewska H, Horvath A, Koletzko B. Effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of women with low-risk pregnancies on pregnancy outcomes and growth measures at birth: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1337-1344.
206. Agostoni C, Trojan S, Bellù R, Riva E, Bruzzese MG, Giovannini M. Developmental quotient at 24 months and fatty acid composition of diet in early infancy: a follow up study. *Arch Dis Child*. 1997 May;76(5):421-424.
207. Lucas A, Stafford M, Morley R, Abbott R, Stephenson T, MacFadyen U, Elias-Jones A, Clements H. Efficacy and safety of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of infant-formula milk: a randomised trial. *Lancet*. 1999 Dec 4;354(9194):1948-1954.
208. Lucas A, Morley R, Stephenson T, Elias-Jones A. Long-chain polyunsaturated fatty acids and infant formula. *Lancet*. 2002 Oct 12;360(9340):1178.
209. de Jong C, Kikkert HK, Fidler V, Hadders-Algra M. The Groningen LCPUFA study: no effect of postnatal long-chain polyunsaturated fatty acids in healthy term infants on neurological condition at 9 years. *Br J Nutr*. 2010 Aug;104(4):566-72.
210. Auestad N, Scott DT, Janowsky JS, Jacobsen C, Carroll RE, Montalto MB, Halter R, Qiu W, Jacobs JR, Connor WE, Connor SL, Taylor JA, Neuringer M, Fitzgerald KM, Hall RT. Visual, cognitive, and language assessments at 39 months: a follow-up study of children fed formulas containing long-chain polyunsaturated fatty acids to 1 year of age. *Pediatrics*. 2003 Sep;112(3 Pt 1):e177-183.
211. Salvatierra, M.T., Cruz, F., Laynez, C. Intervención psicológica en atención temprana. En : Ruiz A, Robles C. (eds.) Niños de riesgo. Programas de Atención Temprana 395-411. Madrid : Norma Capital.
212. Sherry CL, Oliver JS, Marriage BJ. Docosahexaenoic acid supplementation in lactating women increases breast milk and plasma docosahexaenoic acid concentrations and alters infant omega 6:3 fatty acid ratio. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2015 Apr;95:63-69.

213. Yehuda S, Carasso RL. Modulation of learning, pain thresholds, and thermoregulation in the rat by preparations of free purified alpha-linolenic and linoleic acids: determination of the optimal omega 3-to-omega 6 ratio. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Nov 1;90(21):10345-10349.
214. Dunstan JA, Simmer K, Dixon G, Prescott SL. Cognitive assessment of children at age 2(1/2) years after maternal fish oil supplementation in pregnancy: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2008;93:F45–50
215. Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: methods, results, and implications. *Am J Clin Nutr*. 2000 Jan;71(1 Suppl):256S-267S.
216. Hintz SR, Kendrick DE, Vohr BR, Kenneth Poole W, Higgins RD; Nichd Neonatal Research Network. Gender differences in neurodevelopmental outcomes among extremely preterm, extremely-low-birth weight infants. *Acta Paediatr*. 2006 Oct;95(10):1239-1248.
217. Marlow N, Hennessy EM, Bracewell MA, Wolke D; EPICure Study Group. Motor and executive function at 6 years of age after extremely preterm birth. *Pediatrics*. 2007 Oct;120(4):793-804
218. Sharma R, Joshi S, Singh KD, Kumar A. Visual Evoked Potentials: Normative Values and Gender Differences. *J Clin Diagn Res*. 2015 Jul;9(7):CC12-15.
219. Löfqvist C, Engström E, Sigurdsson J, Hård AL, Niklasson A, Ewald U, Holmström G, Smith LE, Hellström A. Postnatal head growth deficit among premature infants parallels retinopathy of prematurity and insulin-like growth factor-1 deficit. *Pediatrics*. 2006 Jun;117(6):1930-1938.
220. Burdge GC, Calder PC. Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod Nutr Dev*. 2005 Sep-Oct;45(5):581-97.

221. Pryds O, Trojaborg W, Carlsen J, Jensen J. Determinants of visual evoked potentials in preterm infants. *Early Hum Dev.* 1989 May;19(2):117-125.

222. Kothari R, Singh R, Singh S, Bokariya P. Effect of head circumference on parameters of pattern reversal visual evoked potential in healthy adults of central India. *Nepal Med Coll J.* 2012 Jun;14(2):75-79.

223. Dhobale MV, Wadhvani N, Mehendale SS, Pisal HR, Joshi SR. Reduced levels of placental long chain polyunsaturated fatty acids in preterm deliveries. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2011 Sep-Oct;85(3-4):149-153.

224. Peters BD, Machielsen MW, Hoen WP, Caan MW, Malhotra AK, Szeszko PR, Duran M, Olabbarriaga SD, de Haan L. Polyunsaturated fatty acid concentration predicts myelin integrity in early-phase psychosis. *Schizophr Bull.* 2013 Jul;39(4):830-838.

225. Babin F, Sarda P, Limasset B, Descomps B, Rieu D, Mendy F, Crastes de Paulet A. Nervonic acid in red blood cell sphingomyelin in premature infants: an index of myelin maturation? *Lipids.* 1993 Jul;28(7):627-630.

226. Malcolm CA1, McCulloch DL, Montgomery C, Shepherd A, Weaver LT. Maternal docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and visual evoked potential development in term infants: a double blind, prospective, randomised trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003 Sep;88(5):F383-390.

227. Jensen CL, Voigt RG, Prager TC, Zou YL, Fraley JK, Rozelle JC, Turcich MR, Llorente AM, Anderson RE, Heird WC. Effects of maternal docosahexaenoic acid intake on visual function and neurodevelopment in breastfed term infants. *Am J Clin Nutr.* 2005 Jul;82(1):125-132.