



TESIS DE DOCTORADO

**Concentración de los minerales,
oligoelementos esenciales y
oligoelementos tóxicos en la leche
materna y las fórmulas infantiles**

Natalia Mandiá Rodríguez

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE
LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN MEDICINA

SANTIAGO DE COMPOSTELA
2021





DECLARACIÓN DEL AUTOR/A DE LA TESIS

Dña. **Natalia Mandiá Rodríguez**

Título da tese: **Concentración de los minerales, oligoelementos esenciales y oligoelementos tóxicos en la leche materna y las fórmulas infantiles**

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
- 2) De ser el caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
- 3) Confirмо que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.
- 4) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide de la versión impresa con la presentada en formato electrónico.

Y me comprometo a presentar el Compromiso Documental de Supervisión en el caso que el original no esté depositado en la Escuela.

En Santiago de Compostela, 18 de junio de 2021.

Firma electrónica





AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/TUTOR DE LA TESIS

D./Dña. **María Luz Couce Pico**

En condición de: **Director/a**

Título de la tesis: **Concentración de los minerales, oligoelementos esenciales y oligoelementos tóxicos en la leche materna y las fórmulas infantiles**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D^a. Natalia Mandiá Rodríguez, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de Monográfica con reproducción de publicaciones, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 18 de junio de 2021.

Firma electrónica





AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/TUTOR DE LA TESIS

D./Dña. **José María Fraga Bermúdez**

En condición de: **Director/a**

Título de la tesis: **Concentración de los minerales, oligoelementos esenciales y oligoelementos tóxicos en la leche materna y las fórmulas infantiles**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D^a. Natalia Mandiá Rodríguez, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de Monográfica con reproducción de publicaciones, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 18 de junio de 2021.

Firma electrónica





AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/TUTOR DE LA TESIS

D./Dña. **María Rosaura Leis Trabajo**

En condición de: **Tutor/a**

Título de la tesis: **Concentración de los minerales, oligoelementos esenciales y oligoelementos tóxicos en la leche materna y las fórmulas infantiles**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D^ª. Natalia Mandiá Rodríguez, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de Monográfica con reproducción de publicaciones, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 18 de junio de 2021.

Firma electrónica



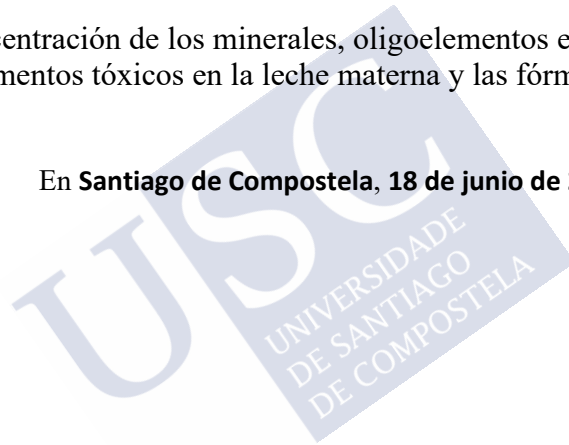


Dña. Natalia Mandiá Rodríguez

Declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la tesis doctoral titulada:

Concentración de los minerales, oligoelementos esenciales y oligoelementos tóxicos en la leche materna y las fórmulas infantiles

En **Santiago de Compostela, 18 de junio de 2021.**





AGRADECIMIENTOS

Hacer esta tesis ha sido un proceso largo, lleno de luces y sombras.

Por suerte, el camino lo he recorrido muy acompañada, por lo que son muchas las personas a las que tengo que agradecer toda la ayuda y apoyo recibido, intentaré no olvidarme de ninguna:

En primer lugar, quisiera dar las gracias a mis directores de tesis, por confiar en mí para llevar a cabo este proyecto. Gracias al Dr. José María Fraga por sus conocimientos y su espíritu crítico, que me han ayudado a intentar buscar la perfección en todo momento. Y gracias a la Dra. María Luz Couce por su apoyo constante, incluso cuando las fuerzas flaqueaban, que me llevó de la mano en cada una de las etapas de este trabajo. Sin ti nada de esto habría sido posible.

Gracias a todos mis compañeros de la Unidad de Neonatología del CHUS, por hacerme sentir en casa desde el primer día. Gracias por vuestro cariño y por vuestros consejos, es un auténtico honor poder formar parte de este gran equipo.

Gracias a todo el personal del Laboratorio de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela, en especial a la Dra. Paloma Herbello, porque no hubiese podido conseguir estos resultados de no haber sido por su magnífico trabajo.

Gracias a todos mis amigos y amigas, que muchas veces tuvieron que lamentar mis ausencias en este tiempo y los infinitos “¡No tengo tiempo!”, pero que siempre me animaron a seguir escribiendo.

Gracias a mi familia, en especial a mis padres, por ser el motor que impulsa mis sueños, estando siempre a mi lado en los días más difíciles. Sois mis guías de vida.

Gracias Gon, por tus abrazos cuando mis ánimos decaían, por el amor y la paciencia infinita, por apoyarme en todas las decisiones que tomo, por alegrarme la vida.

Esta tesis es tan mía como vuestra. ¡Gracias por formar parte de este proyecto!



RESUMEN

La leche materna es el alimento más idóneo para la nutrición infantil. La Organización Mundial de la Salud recomienda la lactancia materna de forma exclusiva durante los 6 primeros meses de vida. En general, durante este tiempo la lactancia materna contiene todos los nutrientes necesarios para el desarrollo infantil adecuado. Para los lactantes que no pueden ser amamantados, una alternativa es la leche de fórmula para lactantes, cuya composición se adapta continuamente para proporcionar beneficios nutritivos similares a la leche materna. Las recomendaciones sobre la composición de leche materna y la leche de fórmula son establecidas por la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica y la Academia Americana de Pediatría.

Dada la importancia de una ingesta adecuada de micronutrientes en los primeros años de vida y las diferencias en las dietas y el medio ambiente entre las poblaciones, el análisis de oligoelementos en la alimentación infantil es importante desde una perspectiva de salud pública. Los déficits de micronutrientes en la vida temprana tienen efectos adversos en los lactantes y están asociados con infecciones a corto plazo y tasas más altas de ciertas enfermedades, además los niveles excesivos de micronutrientes también pueden ser dañinos. Además de los elementos esenciales, el consumo de leche también puede resultar en la transferencia de metales potencialmente tóxicos.

Por ello, el objetivo de nuestro estudio es cuantificar los niveles de minerales y oligoelementos, tanto en leche materna en sus diferentes etapas como en las fórmulas infantiles que se emplean para la alimentación de los recién nacidos a término y prematuros durante el primer año de vida; además de evaluar posibles asociaciones de estos elementos con variables médicas, sociales, ambientales y demográficas.

Con el fin de analizar la composición de la leche en nuestra área de salud hemos diseñado un estudio prospectivo, serie de casos, de 170 madres lactantes del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, además de un estudio transversal de un porcentaje significativo de las leches de fórmula disponibles en el mercado. Después de recibir el consentimiento informado, se obtuvieron muestras de leche materna (5-10 ml) de recién nacidos a término en los 3 períodos de lactancia durante los primeros 6 meses de vida: calostro durante los primeros 3-4 días de lactancia (n = 70), leche intermedia hasta los 7-10 días (n = 70), leche madura posterior, (n = 70) y de leche madura de madres de recién nacidos prematuros (n = 100) entre el 1 de enero de 2018 y el 30 de junio de 2019. Además, se recogieron muestras de leches de fórmula (n = 30) vendidas en España para menores de 1 año y se clasificaron en 4 grupos: fórmulas de inicio (n = 13), fórmulas de continuación (n = 10), fórmulas hidrolizadas (n = 5) y fórmulas para prematuros (n = 2). Las concentraciones de los minerales y oligoelementos se analizaron en el Laboratorio de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela.

Se cuantificaron las concentraciones de 35 elementos: minerales (5), que incluyen calcio, potasio, magnesio, sodio y fósforo; oligoelementos esenciales (9), que son cobalto, cromo, cobre, hierro, iodo, manganeso, molibdeno, selenio y zinc; y oligoelementos tóxicos (21): plata, aluminio, arsénico, bario, berilio, cadmio, cesio, galio, mercurio, litio, níquel, plomo, platino, rubidio, antimonio, estaño, estroncio, titanio, talio, uranio, y vanadio.

Para cada madre participante se recogió en un cuestionario al final del embarazo: la edad, el aumento de peso durante el embarazo, el lugar de residencia, hábitos tabáquicos y consumo de alcohol. Se registraron además la edad gestacional y el peso al nacer de todos los recién nacidos.

Este estudio es el primero en describir los niveles de talio en leche materna y fórmulas infantiles, de estroncio en leche materna pretérmino y de galio, litio y uranio en fórmulas infantiles. Las

concentraciones de la mayoría de los minerales y oligoelementos estuvieron dentro de los rangos aceptados internacionalmente, pero observamos que existe una disminución significativa de la concentración de selenio ($p < 0,001$), menor a los niveles aconsejados, tanto en la leche materna a término como en la leche materna pretérmino, asociándose además con neonatos de menor peso al nacimiento ($p < 0,002$). También hemos objetivado concentraciones significativamente mayores de los oligoelementos tóxicos cesio y estroncio ($p < 0,001$), aumentados al doble de lo aconsejado por los organismos internacionales. Además, hemos descrito la importancia del medio ambiente en los niveles de los oligoelementos tóxicos, con relaciones particularmente llamativas entre el arsénico y los ambientes urbanos ($p=0.013$), y el plomo con el tabaquismo ($p=0.024$) y el consumo de agua de pozo ($p=0.046$). En cuanto a las fórmulas infantiles, observamos un aumento significativo de los niveles de aluminio, estaño y vanadio, además de los nuevos hallazgos de los niveles de uranio, en comparación con la leche materna ($p < 0,001$).

En conclusión, la leche que reciben los neonatos y lactantes de nuestra área sanitaria en el primer año de vida tiene una adecuada composición en cuanto a los minerales y oligoelementos que la componen, aunque el vivir en ambientes urbanos, el tabaco o el consumo de agua de pozo son factores de riesgo para el aumento de los niveles de tóxicos en la leche materna. Sería recomendable prestar especial atención a los niños nacidos prematuramente por los niveles bajos de selenio en la leche materna y los niveles elevados de cesio y estroncio, ya que podría suponer un mayor riesgo de presentar déficits nutricionales y/o toxicidad a corto o largo plazo. Además, hay un aumento significativo de los niveles de oligoelementos tóxicos en las leches de fórmula comparado con la leche materna, por lo que sería recomendable intentar reducir sus niveles para evitar consecuencias en la salud de los neonatos y lactantes en su vida adulta.

Palabras clave: Leche materna, oligoelementos, minerales, metales tóxicos, leche de fórmula, recién nacido, prematuro.



RESUMO

O leite materno é o alimento máis adecuado para a nutrición infantil. A Organización Mundial da Saúde recomenda a lactancia materna exclusiva durante os primeiros 6 meses de vida. En xeral, durante este período a lactación materna contén todos os nutrientes necesarios para un bo desenvolvemento infantil. Para os lactante que non poden ser amamantados, unha alternativa é a fórmula do leite infantil, cuxa composición está continuamente adaptada para proporcionar beneficios nutricionais similares ao leite materno. As recomendacións sobre a composición do leite humano e do leite de fórmula son establecidas pola Sociedade Europea de Gastroenteroloxía, Hepatoloxía e Nutrición Pediátrica e a Academia Americana de Pediatría.

Dada a importancia dunha inxestión adecuada de micronutrientes nos primeiros anos de vida e as diferenzas nas dietas e no ambiente entre as poboacións, a análise dos oligoelementos na alimentación infantil é importante desde unha perspectiva de saúde pública. Os déficits de micronutrientes na vida temperá teñen efectos adversos nos lactantes e están asociados con infeccións a curto prazo e maiores taxas de enfermidade, mentres que o exceso de niveis de micronutrientes tamén pode ser prexudicial. Ademais dos elementos esenciais, o consumo de leite tamén pode producir a transferencia de metais potencialmente tóxicos.

Por esta razón, o obxectivo do noso estudo é cuantificar os niveis de minerais e oligoelementos, tanto no leite materno nas súas diferentes etapas como nas fórmulas para lactantes empregadas para alimentar aos recentemente nados a término e prematuros durante o primeiro

ano de vida; ademais de avaliar as posibles asociacións destes elementos con variables médicas, sociais, ambientais e demográficas.

Para analizar a composición do leite na nosa área sanitaria, deseñamos un estudo prospectivo, serie de casos, de 170 nais lactantes do Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, ademais dun estudo transversal de fórmulas infantís dispoñibles no mercado. Despois de recibir o consentimento informado previo, obtivéronse mostras de leite materno (5-10 ml) nos 3 períodos diferentes de lactación durante os primeiros 6 meses de vida: calostro durante os primeiros 3-4 días de lactación (n = 70), leite intermedio ata 7-10 días (n = 70), posteriormente leite madura (n = 70) ademais de leite madura pretérmino (n = 100) entre o 1 de xaneiro de 2018 e o 30 de xuño de 2019. Tamén se recolleron mostras de leite de fórmula (n = 30) vendidos en España para lactantes menores de 1 ano e clasificáronse en 4 grupos: fórmulas de inicio (n = 13), fórmulas de continuación (n = 10), fórmulas hidrolizadas (n = 5) e fórmulas para prematuros (n = 2). As concentracións de minerais e oligoelementos analizáronse no Laboratorio de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía da Universidade de Santiago de Compostela.

Cuantificáronse as concentracións de 35 elementos: Minerais (5), que inclúen calcio, potasio, magnesio, sodio e fósforo; oligoelementos esenciais (9), que son cobalto, cromo, cobre, ferro, iodo, manganeso, molibdeno, selenio e zinc; e oligoelementos tóxicos (21): prata, aluminio, arsénico, bario, berilio, cadmio, cesio, galio, mercurio, litio, níquel, plomo, platino, rubidio, antimonio, estaño, estroncio, titanio, talio, uranio e vanadio.

Para cada nai participante recolleuse nun cuestionario ao final do embarazo: a idade, o aumento de peso durante o embarazo, o lugar de residencia, hábitos de fumar e consumo de alcohol. Tamén se rexistrou a idade xestacional e o peso ao nacer de todos os recém nados.

Este estudo é o primeiro en describir os niveis de talio no leite materno e fórmulas infantís, de estroncio no leite materno pretérmino

e de galio, litio e uranio nas fórmulas infantís. As concentracións da maioría dos minerais e oligoelementos estaban dentro dos rangos aceptados internacionalmente, pero descubrimos que hai unha diminución significativa na concentración de selenio ($p < 0,001$), inferior aos niveis aconsellados, tanto no leite materno a término como no leite materno pretérmino, tamén asociado a neonatos de menor peso ao nacemento ($p < 0,002$). Tamén atopamos concentracións significativamente máis altas dos oligoelementos tóxicos cesio e estroncio ($p < 0,001$), ao dobre que o aconsellado por organizacións internacionais. Ademais, describimos a importancia do medio ambiente nos niveis de oligoelementos tóxicos, con relacións especialmente chamativas entre o arsénico e os ambientes urbanos ($p = 0,013$) e o plomo co tabaquismo ($p = 0,024$) e o consumo de auga de pozo ($p = 0,046$).

En canto ás fórmulas infantís, observamos un aumento significativo dos niveis de aluminio, estaño e vanadio, ademais dos niveis de uranio descritos por primeira vez, en comparación co leite materno ($p < 0,001$).

En conclusión, o leite que reciben os neonatos e lactantes da nosa área sanitaria no primeiro ano de vida ten unha composición adecuada en canto a minerais e oligoelementos que o compoñen, aínda que vivir nun ambiente urbano, o consumo de tabaco ou auga de pozo son factores de risco para o aumento dos niveis de tóxicos no leite materno. Sería aconsellable prestar especial atención aos nenos nados prematuramente debido aos baixos niveis de selenio no leite materno e aos altos niveis de cesio e estroncio, xa que pode supoñer un maior risco de presentar deficiencias nutricionais e toxicidade no curto ou no longo prazo. Ademais, hai un aumento significativo dos niveis de oligoelementos tóxicos no leite de fórmula en comparación co leite materno, polo que sería recomendable tratar de reducir os seus niveis para evitar consecuencias na saúde dos neonatos e lactantes na súa vida adulta.

Palabras chave: Leite materno, oligoelementos, minerais, metais tóxicos, leite de fórmula, recém nado, prematuro.



ABSTRACT

Human milk is considered the gold standard for infant nutrition, both for full-term and preterm infants. The World Health Organization recommends exclusive breastfeeding for the first 6 months of life. Human milk contains all the nutrients necessary for proper child development. For babies that cannot be breastfed, one alternative is infant milk formula, the composition of which is continuously adapted to provide similar nutritive benefits to human milk. Recommendations on the composition of infant formula and human milk are established by the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition and the American Academy of Pediatrics.

Given the importance of adequate micronutrient intake in early life and the differences in diets and environments between populations, analysis of trace elements in IF is important from a public health perspective. Deficits in micronutrients in human milk or infant formula in early life have adverse effects on infants and are associated with short-term infections and higher rates of diseases, and excessive levels of micronutrients can also be harmful. In addition to essential elements, milk consumption can also result in the transfer to infants of potentially toxic metals. For this reason, the objective of our study is to quantify the levels of minerals and trace elements, both in breast milk in its different stages and in the infant formulas used to feed term and premature newborns during the first year of life; in addition to evaluate possible associations of these elements with medical, social, environmental and demographic variables.

In order to analyze the composition of milk in our health area, we conducted a prospective study, case series, of nursing mothers from the Santiago de Compostela University Hospital, and a cross sectional

study of infant formula available in Spain. After receiving prior informed consent, HM samples (5–10 ml) were obtained in 3 different periods of lactation during the first 6 months after birth: colostrum during the first 3-4 days of lactation (n=70), intermediate milk up to 7-10 days (n=70), and later mature milk, both in mothers of full-term (n=70); and later mature in mothers of premature newborns (n=100) between January 1, 2018 and June 30, 2019. In addition, samples of formula milk (n = 30) sold in Spain for children under 1 year of age were collected and classified into 4 groups: starter formulas (n = 13), continuation formulas (n = 10), hydrolyzed formulas (n = 5) and formulas for premature infants (n = 2). Concentrations of the elements in milk were analyzed at the Laboratory of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology of the University of Santiago de Compostela.

Elements (n=35) were classified into 3 groups: Minerals (5), including calcium, potassium, magnesium, sodium and phosphorus; essential trace elements (9), including cobalt, chromium, copper, iron, iodine, manganese, molybdenum, selenium and zinc; and toxic trace elements (21) including silver, aluminum, arsenic, barium, beryllium, cadmium, cesium, gallium, mercury, lithium, nickel, lead, platinum, rubidium, antimony, tin, strontium, titanium, thallium, uranium, and vanadium.

For each participating mother, age, weight gain during pregnancy (excessive weight gain ≥ 16 kg) (19), residency, smoking and drinking status were evaluated at the end of pregnancy. Gestational age and birth weight were recorded for all newborns.

Present study is the first to describe the levels of thallium in human milk and infant formulas, strontium in preterm human milk, and gallium, lithium, and uranium in infant formulas. The concentrations of most of the minerals and trace elements were within the internationally accepted ranges, but we found that there is a significant decrease in the concentration of selenium ($p < 0.001$), below recommended levels, both in term and preterm human milk, also associated with low birth weight ($p < 0.002$). We have also found significantly higher concentrations of the toxic trace elements cesium

and strontium ($p < 0.001$), twice those recommended by international standards. In addition, we have described the importance of the environment in the levels of toxic trace elements, with particularly striking relationships between arsenic and urban environments ($p = 0.013$), and lead with smoking ($p = 0.024$) and well water consumption ($p 0.046$).

Regarding infant formulas, we observed a significant increase in aluminum, tin and vanadium levels, in addition to the new findings of uranium, compared to breast milk ($p < 0.001$).

In conclusion, the milk that neonates and infants in our health area receive in the first year of life has an adequate composition in terms of minerals and trace elements that compose it, although living in urban environments, tobacco or well water consumption are risk factors for increased toxic elements in human milk. It would be advisable to pay special attention to children born prematurely due to the low levels of selenium in human milk and the high levels of cesium and strontium, since it could be a risk of nutritional deficiencies and toxicity. In addition, there is a significant increase in the levels of toxic trace elements in formula milk compared to human milk, so manufacturers should reduce their levels to avoid long-term health consequences for neonates and infants in their adult life.

Keywords: Breast milk, trace elements, minerals, toxic metals, infant milk formula, newborn, preterm.



ABREVIATURAS

AAP	American Academy of Pediatrics
Ag	Plata
Al	Aluminio
ARA	Ácido araquidónico
As	Arsénico
ASV	Voltamperometría de separación anódica
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
Ba	Bario
Be	Berilio
Ca	Calcio
Cd	Cadmio
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cs	Cesio
Cu	Cobre
DBP	Displasia broncopulmonar
DG	Diabetes gestacional
DHA	Ácido docosaheptaenoico

EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
EM	Edad materna
ESPGHAN	European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition
Fe	Hierro
FC	Fórmula de continuación
FH	Fórmula hidrolizada
FI	Fórmula de inicio
FP	Fórmula de prematuros
Ga	Galio
Hg	Mercurio
HT	Hipertensión
HTLV	Virus linfotrópico de células T humanas
I	Yodo
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICP-OES	Inductively coupled plasma optical emission spectrometry
ICP-MS	Inductively coupled plasma mass spectrometry
IFN	Interferón
Ig	Inmunoglobulina
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal

ISE	Potenciometría con electrodos selectivos de iones
K	Potasio
LC-PUFAS	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga
LF	Leche de fórmula
Li	Litio
LM	Leche materna
LMD	Leche materna donada
MCT	Triglicéridos de cadena media
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
Na	Sodio
NEC	Enterocolitis Necrosante
Ni	Niquel
NIDCAP	Newborn Individualized Developmental Care and Assessment Program
OMS	Organización Mundial de la Salud
P	Fósforo
Pb	Plomo
PEG	Pequeños para la edad gestacional
PET	Polyethylene terephthalate
PM	Leche materna prematura
Pt	Platino

Rb	Rubidio
RN	Recién nacido
ROP	Retinopatía de la prematuridad
Sb	Antimonio
Se	Selenio
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SMSL	Síndrome de muerte súbita del lactante
Sn	Estaño
Sr	Estroncio
TFG	Factor de crecimiento transformante
TC	Calostro a término
TI	Leche intermedia a término
Ti	Titanio
Tl	Talio
TM	Leche madura a término.
TNF	Factor de necrosis tumoral
U	Uranio
UCIN	Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales
V	Vanadio
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
Zn	Zinc

ÍNDICE

RESUMEN	15
RESUMO.....	19
ABSTRACT	23
ABREVIATURAS	27
1. INTRODUCCIÓN.....	41
1.1. LECHE MATERNA	41
1.1.1 Composición de la leche materna.....	41
1.1.2 Beneficios y contraindicaciones de la lactancia materna	47
1.1.3 La lactancia materna en los RN prematuros.....	52
1.1.4 Leche materna donada.....	57
1.2 LECHE DE FÓRMULA	59
1.2.1 Composición.....	60
1.2.2 Tipos de leche de fórmula	61
1.3 ANÁLISIS DE LOS MICRONUTRIENTES DE LA LECHE MATERNA Y LA LECHE DE FÓRMULA	64
1.3.1 Minerales	66
1.3.2 Oligoelementos esenciales	70
1.3.3 Oligoelementos tóxicos	81
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO:	103
2.1 JUSTIFICACIÓN	103
2.2 OBJETIVOS:.....	104

3. MATERIAL Y MÉTODOS:	105
3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	105
3.1.1 Población.....	106
3.2. VARIABLES DE ESTUDIO	107
3.3 TAMAÑO MUESTRAL.....	110
3.4 MÉTODO:	110
3.4.1 Recogida y preparación de muestras previo al análisis	110
3.4.2 Procedimiento analítico	110
3.4.3 Metodología de las variables maternas y neonatales estudiadas.....	114
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	118
4. RESULTADOS:	121
4.1 POBLACIÓN:	121
4.2 CONCENTRACIONES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS EN LA LECHE MATERNA	123
4.3 CONCENTRACIONES DE OLIGOELEMENTOS EN LAS LECHE DE FÓRMULA PARA LACTANTES:.....	137
4.4 COMPARACIÓN DE NIVELES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ENTRE LACTANCIA MATERNA Y LECHE DE FÓRMULA.	143
4.5 CORRELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE LOS MINERALES Y OLIGOELEMENTOS EN LA LECHE MATERNA MADURA CON CARACTERÍSTICAS MATERNAS DE EDAD Y SALUD GESTACIONAL Y EL PESO DEL RN.....	147
4.6. CORRELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS EN LM Y EL ESTILO DE VIDA MATERNO	150

4.7	COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE OLIGOELEMENTOS OBJETIVADOS EN LA LECHE MATERNA CON LOS VALORES INDICADOS POR LA AAP:	153
4.8	COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE DE FÓRMULA CON LAS RECOMENDACIONES DE LA ESPGHAN:.....	158
4.9	COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE OLIGOELEMENTOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS DE LECHE DE FÓRMULA CON LOS DATOS DE LA FICHA TÉCNICA:	159
5.	DISCUSIÓN	163
5.1	MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE MATERNA.....	164
5.2	MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE MATERNA Y SU RELACIÓN CON EL CONTEXTO MEDIOAMBIENTAL	170
5.3	MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE DE FÓRMULA.....	171
5.4	OLIGOELEMENTOS TÓXICOS EN LECHE MATERNA	172
5.5	OLIGOELEMENTOS TÓXICOS EN LECHE MATERNA Y SU RELACIÓN CON EL CONTEXTO MEDIOAMBIENTAL:	178
5.6	OLIGOELEMENTOS TÓXICOS EN LECHE DE FÓRMULA.....	179
5.7	SESGOS Y LIMITACIONES:.....	182
5.8	APORTACIONES DEL ESTUDIO:	182
6.	CONCLUSIONES	185
7.	ANEXO 1: Publicaciones	191
8.	BIBLIOGRAFÍA:.....	215

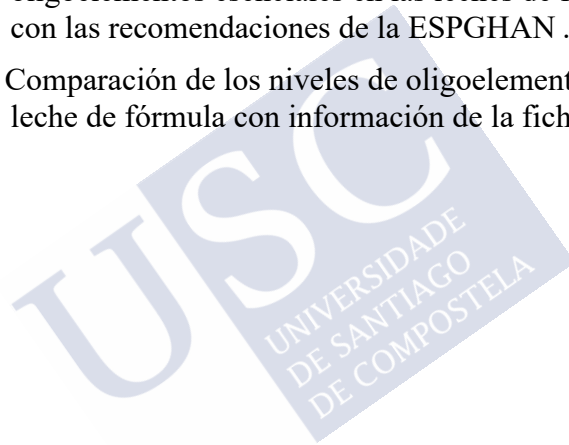


ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de las diferentes etapas de la leche materna de madre de RN a término.....	45
Tabla 2. Efectos de la pasteurización en los componentes de la leche	59
Tabla 3. Composición de la leche materna, fórmula de prematuro y fórmula de inicio estándar	63
Tabla 4. Variabilidad en la composición de minerales y oligoelementos en leche materna y leche de fórmula.	109
Tabla 5. Condiciones instrumentales del equipo de espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)	112
Tabla 6. Condiciones instrumentales del equipo de espectrometría de masas por espectrofotómetro de emisión óptico (ICP-OES)	113
Tabla 7. Características recogidas de madres e hijos.	122
Tabla 8. Concentración de los minerales según el tipo de leche materna.	123
Tabla 9. Concentración de los oligoelementos esenciales según el tipo de leche materna.....	125
Tabla 10. Concentración de los 21 oligoelementos tóxicos según el tipo de leche materna	130
Tabla 11. Concentración de los minerales en leches de fórmula.....	138
Tabla 12. Concentración de los oligoelementos esenciales en leches de fórmula.	139

Tabla 13. Concentraciones de los oligoelementos tóxicos en leches de fórmula.	140
Tabla 14. Comparación de la concentración de minerales en las leches de fórmula infantil vs la leche materna.	143
Tabla 15. Comparación de la concentración de oligoelementos esenciales en las leches de fórmula infantil vs la leche materna.	144
Tabla 16. Comparación de la concentración de oligoelementos tóxicos en las leches de fórmula infantil vs la leche materna.	145
Tabla 17. Correlación entre las concentraciones de minerales en leche materna madura con las características maternas de edad, de salud gestacional y peso del RN.	147
Tabla 18. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos esenciales en leche materna madura con las características maternas de edad y salud gestacional y el peso del RN.	148
Tabla 19. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos tóxicos en leche materna madura con las características maternas de edad y salud gestacional y el peso del RN.	149
Tabla 20. Correlación entre las concentraciones de minerales en leche materna con la salud gestacional y el estilo de vida materno.	150
Tabla 21. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos esenciales en leche materna con la salud gestacional y el estilo de vida materno.	151
Tabla 22. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos tóxicos en leche materna con la salud gestacional y el estilo de vida materno.	152

Tabla 23. Comparación de los minerales en leche materna en relación con los valores recomendados por AAP	154
Tabla 24. Comparación de los oligoelementos esenciales en leche materna en relación con los valores recomendados por la AAP	155
Tabla 25. Comparación de 14 oligoelementos tóxicos en leche materna en relación con los valores recomendados por la AAP	156
Tabla 26. Comparación de los niveles de minerales y de oligoelementos esenciales en las leches de fórmula con las recomendaciones de la ESPGHAN	158
Tabla 27. Comparación de los niveles de oligoelementos en leche de fórmula con información de la ficha técnica	160





ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Concentración de calcio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	124
Figura 2. Concentración de cobre en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	126
Figura 3. Concentración de hierro en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	127
Figura 4. Concentración de yodo en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	127
Figura 5. Concentración de manganeso en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	128
Figura 6. Concentración de molibdeno en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	128
Figura 7. Concentración de selenio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	129
Figura 8. Concentración de zinc en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	129

Figura 9. Concentración de bario en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.	134
Figura 10. Concentración de cadmio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.....	134
Figura 11. Concentración de cesio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.....	135
Figura 12. Concentración de plomo en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.....	135
Figura 13. Concentración de rubidio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.....	136
Figura 14. Concentración de estroncio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.....	136
Figura 15. Concentración de titanio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino.....	137

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LECHE MATERNA

La leche materna (LM) es considerada el alimento más idóneo para la nutrición infantil. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la lactancia materna de forma exclusiva durante los 6 primeros meses de vida. En general, durante este tiempo la LM contiene todos los nutrientes necesarios para el desarrollo infantil adecuado, es decir, contiene todos los macro y micronutrientes que un niño necesita para un crecimiento saludable (1). Además, contiene proteínas protectoras, incluyendo anticuerpos y enzimas que ayudan a combatir las infecciones. Y, en muchas partes del mundo, como en España, existen bancos de leche humana donada para poder administrársela a recién nacidos (RN) muy prematuros y a neonatos críticamente enfermos en unidades neonatales cuando la propia LM es insuficiente o no está disponible. (2).

1.1.1 Composición de la leche materna

La composición de la LM cambia con la edad postnatal. Se distinguen en ella tres etapas diferentes: calostro, leche de transición y leche madura. El calostro es la primera etapa de la leche materna, se produce durante el embarazo y se prolonga durante los primeros días después del nacimiento del bebé. El calostro es rico en proteínas, incluyendo inmunoglobulinas, vitaminas solubles en grasas y minerales. De dos a cuatro días después del nacimiento, el calostro se sustituye por leche de transición, la cual tiene una duración de aproximadamente dos semanas. El contenido de la leche de transición incluye niveles elevados de grasa, lactosa y vitaminas solubles en

agua, y contiene más calorías que el calostro. La leche madura es la leche final que se produce y el 90% de la misma es agua, que es necesaria para mantener al bebé hidratado. El otro 10% se compone de hidratos de carbono, proteínas, y grasas que son necesarios para obtener energía y el crecimiento.

Hay que tener presente igualmente que su composición se caracteriza por ser dinámica, con variabilidad entre el principio y el final de la toma. La grasa de la leche materna y el contenido de energía varían desde el inicio hasta el final de la alimentación, y siguen un patrón diurno tanto en la leche de madre con un parto a término como en la de una madre con un parto prematuro. Además, la composición de la LM está influenciada por muchos factores y varía entre diferentes mujeres, con la dieta materna, el área de residencia y el período de lactancia, o en función de la edad gestacional en el momento del parto.

Los estudios de la composición de la LM se caracterizan por la variabilidad en el método de obtención, almacenamiento, procesamiento y análisis. El patrón de oro es la muestra de LM obtenida de la extracción durante 24 horas, con varias muestras de la misma persona a lo largo de la lactancia. Sin embargo, este método puede ser de alto coste y limitar el número de participantes en los estudios. Como alternativa, los estudios de composición se pueden estandarizar con la recolección de LM siempre a la misma hora del día, vaciando todo el seno y evitando la extracción del seno que se utilizó para amamantar en la última toma (3). La mayoría de los estudios publicados hasta el momento se realizan con una recolección no estandarizada a base de donantes a bancos de leche, cuya leche se recolecta en diferentes momentos del día, en diferentes momentos dentro de una toma o en diversas etapas de la lactancia. Los estudios sobre la composición de la LM también varían en relación al almacenamiento o las condiciones de tratamiento, así como en el número de ciclos de congelación-descongelación, la duración del almacenamiento o la pasteurización, que a veces pueden explicar los diferentes resultados del estudio (4). Se producen diversos grados de pérdida de nutrientes dependiendo del nutriente y los métodos de almacenamiento. Por ejemplo, para la vitamina C, la pérdida se

produce rápidamente, incluso durante el proceso de alimentación de la leche recién extraída al darla por biberón. Sin embargo, para otros múltiples componentes de la LM, solo puede ocurrir una degradación significativa con el almacenamiento a largo plazo y los ciclos de congelación-descongelación, que tienden a reducir la capacidad bactericida (5).

La LM es prácticamente un tejido vivo, un fluido complejo con componentes celulares y químicos. Consta de numerosos componentes como células, enzimas, hormonas, inmunoglobulinas, citoquinas, e incluso material genético. Todos ellos actúan de manera sinérgica proporcionando las conocidas propiedades antiinfecciosas, nutricionales, antioxidantes y antiinflamatorias de la LM (1).

Los macronutrientes principales en la LM son (Tabla 1) (6):

- Hidratos de carbono: El azúcar principal es el disacárido lactosa. La concentración de lactosa en la LM es la menos variable de los macronutrientes, pero se encuentran concentraciones más altas de lactosa en la leche de las madres que producen mayores cantidades de leche. La lactosa favorece la absorción de minerales y la colonización por flora no patógena. Los otros carbohidratos significativos de la LM son los oligosacáridos, con una concentración aproximada de 1 g/dL en la LM, dependiendo de la etapa de lactancia y los factores genéticos maternos (7).

- Grasa: Se caracteriza por un alto contenido de los ácidos palmítico y oleico, el primero fuertemente concentrado en la posición 2 y el segundo en las posiciones 1 y 3 de los triglicéridos. La grasa es el macronutriente más variable de la leche. La leche posterior, definida como la última leche de una toma, puede contener de dos a tres veces la concentración de grasa encontrada en la leche delantera, definida como la leche inicial de una toma. En un estudio de LM de 71 madres durante un período de 24 horas se halló que el contenido de grasa fue significativamente menor en las tomas nocturnas y matutinas en comparación con las tomas vespertinas (8, 9).

El perfil de ácidos grasos de la LM varía en relación con la dieta materna, particularmente en cuanto a los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFAS). La ingesta de LC-PUFAS en el mundo occidental está sesgada hacia los ácidos grasos omega-6, con una ingesta subóptima de ácidos grasos omega-3. Tanto el colesterol como los LC-PUFAS han sido implicados tanto en el crecimiento como en el desarrollo neurológico (10).

- Proteínas: Las proteínas de la leche humana se dividen en fracciones o complejos de suero (70%) y caseína (30%), cada una de las cuales está compuesta por una notable variedad de proteínas y péptidos específicos, lo que facilita la digestión y el vaciamiento gástrico. Las proteínas más abundantes son la caseína, α -lactalbúmina, lactoferrina, inmunoglobulina secretora IgA, lisozima y albúmina sérica. Los compuestos que no contienen nitrógeno proteico, que incluyen urea, ácido úrico, creatina, creatinina, aminoácidos y nucleótidos, comprenden ~ 25% del nitrógeno de la LM (11). El contenido de proteína de la LM obtenida de las madres que dan a luz prematuramente es significativamente mayor que el de las madres que dan a luz a término. Los niveles de proteína disminuyen en la LM durante las primeras 4 a 6 semanas de vida, independientemente del momento del parto. Por este motivo, en RN prematuros, que tienen una necesidad alta de proteínas, suele ser insuficiente la LM ya sea propia o donada a partir de los 15 días, y generalmente tiene que ser fortificada para conseguir unos niveles de proteínas adecuados a sus necesidades. La concentración de proteínas de la LM no se ve afectada por la dieta materna, pero aumenta con el índice de masa corporal (IMC), y disminuye en las madres que producen mayores cantidades de leche (10).

Los componentes de la LM, como la lactoferrina, la lisozima y la α -lactoalbúmina, crean una barrera protegiendo al lactante frente a factores ambientales dañinos, mejoran los mecanismos de defensa corporal y estimulan el desarrollo del sistema inmunológico (12).

Tabla 1. Composición de las diferentes etapas de la leche materna de madre de RN a término

	Calostro	Leche materna intermedia	Leche materna madura
<i>Hidratos de carbono (g/dL)</i>	5,5 (5,2 - 6,5)	6,1 (5,3 - 7,1)	6,7 (6,4 - 7,7)
<i>Proteínas (g/dL)</i>	4,1 (3,8 - 4,6)	1,6 (0,7 - 2,7)	0,9 (0,6 - 1,4)
<i>Lípidos (g/dL)</i>	2,9 (1,1 - 3,5)	3,5 (2,3 - 5)	3,9 (1,8 - 8,9)
<i>Energía (Kcal/dL)</i>	65-70	70-75	58-70

Además de los macronutrientes, la leche materna también contiene micronutrientes, incluyendo los oligoelementos. Muchos de estos oligoelementos son esenciales para el crecimiento y desarrollo durante los primeros años de vida, ya que los déficits de micronutrientes durante la vida temprana afectan negativamente a la salud individual y comunitaria, asociándose tanto con infecciones a corto plazo como con mayores tasas de enfermedades crónicas (13). Sin embargo, cantidades excesivas de estos elementos también pueden ser perjudiciales. Los niveles altos de hierro (Fe) en leches de fórmula pueden aumentar el riesgo de infección en el lactante al aumentar la biodisponibilidad de los nutrientes para las bacterias patógenas (14), y una alta disposición al manganeso (Mn) en niños se ha asociado con un deterioro del desarrollo cognitivo y de la coordinación motora (15). Incluso en el caso del calcio (Ca), que con niveles excesivos puede conducir a producir daño renal grave, mientras que la escasez aguda puede causar excitabilidad excesiva del sistema nervioso, cambios en la flora intestinal, y afectación ósea (16).

Además de los elementos esenciales, la LM también puede transferir metales potencialmente tóxicos, como el plomo (Pb), el arsénico (As) y el cadmio (Cd). Estos metales han sido detectados en la LM en todo el mundo, aunque las concentraciones pueden variar ampliamente dependiendo de las exposiciones ambientales como la dieta, o el tabaco (17). En la comida, dependerá no solo del tipo y su origen, sino

también de los utensilios de cocina en los que se preparan los alimentos. Weidenhamer et al. demostraron que los utensilios de cocina de aluminio artesanales son una fuente importante de exposición a metales tóxicos (aluminio (Al), Pb, As, Cd) y pueden filtrar cantidades sustanciales de estos metales a la alimentación (18).

La exposición a estos metales en la vida temprana puede contribuir a alteraciones del desarrollo neurológico, de la función inmunológica o de la función respiratoria ya que los niños lactantes son especialmente susceptibles a la toxicidad debido al rápido crecimiento, la inmadurez de los riñones y el hígado y la vulnerabilidad del sistema nervioso central durante el primer año de vida (19). El cuerpo de la mujer embarazada es el primer entorno de un organismo nuevo en desarrollo donde los metales tóxicos pueden tener efectos directos en el feto o interactuar con elementos esenciales y tener efectos adversos indirectos en el útero. Estos elementos también se excretan en la LM a concentraciones que no se correlacionan con la tasa de absorción gastrointestinal materna (20).

Los metales son ubicuos en la naturaleza, pero algunos de ellos se incluyen en un grupo de contaminantes a los que la exposición, incluso a niveles relativamente bajos, puede representar un riesgo para la salud humana. El As ocupa el primer lugar en la lista de prioridades de “Agency for Toxic Substances and Disease Registry” (ATSDR) (21). El Pb, el mercurio y Cd se encuentran en el segundo, tercer y séptimo lugar de esta lista, respectivamente. La exposición humana a los metales puede ocurrir durante la actividad laboral, principalmente por inhalación y exposición dérmica en la industria, y en general en la población por consumo de agua y alimentos, además de la exposición al suelo, polvo y aire. La presencia de metales tóxicos en la LM ha sido estudiada en todo el mundo, y los bebés amamantados son particularmente vulnerables y sensibles a sus efectos tóxicos debido a su rápido crecimiento, a la inmadurez de sus órganos y a la susceptibilidad de su sistema nervioso durante el primer año (22). Además, los niños son más vulnerables y sensibles a sustancias tóxicas que los adultos, ya que su absorción en el tracto gastrointestinal es más alta en los RN y lactantes (23). Por eso, a pesar

de los años acumulados de investigación de los componentes de la leche materna y la leche infantil, los cambios constantes en la dieta y el ambiente de la población requieren un análisis constante. Por ejemplo, los niveles de Pb en la LM de Suecia disminuyeron significativamente de 1989 a 2009, probablemente como resultado de la prohibición del uso de gasolina con Pb (24). Y Cinar et al. informaron que algunos de los niveles más altos de metales tóxicos en la LM de Turquía se encontraron en zonas rurales, no urbanas (25).

El transporte de metales tóxicos en la LM es similar al de los oligoelementos. Para proteger al recién nacido, la glándula mamaria posee una serie de mecanismos que regulan la secreción de metales esenciales en la leche. Los contaminantes contenidos en la LM tienen en su mayoría alta capacidad de acumulación en tejidos corporales específicos, así como un metabolismo lento y una baja tasa de excreción (26). Los mecanismos de regulación de los oligoelementos implican la captación de metales por transportadores específicos en las células epiteliales mamarias y su posterior descarga en la luz alveolar de las glándulas mamarias (27). Los estudios realizados con ratas y ratones indicaron que el Pb se encontraba casi exclusivamente en la fracción de caseína, las proporciones más altas de Cd y metilmercurio se encuentran en la grasa y el mercurio inorgánico en las fracciones de suero (28).

1.1.2 Beneficios y contraindicaciones de la lactancia materna

La LM es más que una buena nutrición, es una sustancia cuidadosamente diseñada que incluye la composición única ideal para el crecimiento y desarrollo de los bebés humanos. Las ventajas de la LM son muchas y han sido bien documentadas en la literatura (29). La LM es universalmente aceptada como el método óptimo de alimentación infantil durante el primer año de vida y, posteriormente, siempre que sea beneficiosa para la díada madre-lactante. Los estudios han demostrado que los beneficios aumentan con la duración y la exclusividad de la lactancia materna hasta los seis meses (30). Como

tal, el deber de la profesión médica en la promoción de la lactancia materna es claro e inequívoco.

Beneficios

- Aspectos nutricionales: La LM contiene las proporciones apropiadas de proteínas, carbohidratos, grasas, minerales y vitaminas para un crecimiento óptimo, con la excepción de las vitaminas D y K. La proporción de suero / caseína de la leche materna es aproximadamente 72: 28, mientras que la proporción de suero / caseína de leche entera de vaca es aproximadamente 18: 82. Las proteínas del suero se acidifican en el estómago, formando cuajadas suaves que se digieren más fácilmente que la caseína, que forma cuajadas duras y difíciles de digerir en el estómago. Los aminoácidos taurina y cisteína están presentes en concentraciones mucho más altas en la LM que en la leche de vaca entera. Estos aminoácidos pueden ser esenciales para los neonatos prematuros. Por otro lado, las cantidades de metionina y fenilalanina, que son mal toleradas por algunos neonatos, se encuentran en concentraciones más bajas en la LM.

La lactosa mejora la absorción de Ca y Fe y promueve el crecimiento de lactobacilos, lo que a su vez ayuda a prevenir el crecimiento de la flora patógena en el intestino. La lactosa se metaboliza fácilmente a glucosa y galactosa, importantes fuentes de energía para el bebé en crecimiento. La glucosa es un combustible esencial para el cerebro. La LM asegura un suministro de galactocerebrósidos, que son esenciales para el desarrollo neurológico.

La LM también contiene nucleótidos, que son necesarios para el metabolismo energético, el crecimiento y la maduración del tracto gastrointestinal, las reacciones enzimáticas y la función inmune mejorada.

Aunque la LM tiene solo una pequeña cantidad de Fe (0.3 mg / L a 1 mg / L), éste es altamente biodisponible, posiblemente debido al menor contenido de Ca y fósforo (P) y la presencia de lactoferrina. Aproximadamente el 50% del Fe en la LM se absorbe, en comparación con aproximadamente el 10% en la leche de vaca entera.

- Ventajas inmunológicas y antiinfecciosas: Las propiedades protectoras de la LM se pueden dividir en factores celulares o humorales. Los componentes celulares, incluidos los linfocitos T y B, los macrófagos y los neutrófilos, se encuentran en niveles especialmente altos en el calostro, y persisten en la leche en concentraciones más bajas. La IgA secretora predomina en la LM y juega un papel vital en la provisión de protección local. La LM contiene glucosaminas, que promueven el crecimiento de *Lactobacillus bifidus*, lo que ayuda a prevenir el crecimiento de la flora patógena en el intestino. La lactancia materna disminuye la incidencia y / o la gravedad de la infección del tracto gastrointestinal, infección del tracto respiratorio inferior, otitis media, infección del tracto urinario, meningitis, septicemia y enterocolitis necrotizante. También hay evidencia que la lactancia materna estimula activamente el sistema inmunitario del bebé (31).

- Prevención de alergias: La lactancia materna tiene un efecto protector sobre la incidencia de atopia en lactantes con una predisposición genética a la atopia (32).

Un metaanálisis de 12 estudios prospectivos (8.183 casos) sugiere que la LM exclusiva durante los primeros meses de vida está asociada con una tasa de asma más baja durante la infancia (33).

- Desarrollo cognitivo: Los niños que son amamantados tienen una función cognitiva más alta que los niños alimentados con fórmula. Anderson et al. realizaron un metaanálisis de 11 estudios que comparaban el desarrollo cognitivo de los lactantes amamantados y alimentados con fórmula. Después de ajustar las posibles variables de confusión, como el estado socioeconómico y la educación materna, el "puntaje de desarrollo cognitivo" fue 3.16 puntos más alto en lactantes amamantados en comparación con lactantes alimentados con fórmula. En este metaanálisis también se objetivó que la duración de la lactancia materna se correlacionó con el desarrollo y el resultado cognitivo (34).

- Prevención de la obesidad: La LM reduce el riesgo de obesidad infantil en un grado moderado. De 11 estudios que examinaron la

prevalencia de obesidad en niños >3 años de vida que tenían un tamaño de muestra de >100 por grupo de alimentación, ocho mostraron un menor riesgo de obesidad en niños que habían sido amamantados después de controlar posibles factores de confusión. Y se sabe que la obesidad infantil puede persistir en obesidad adulta con morbilidad asociada, como diabetes mellitus tipo 2, hipertensión e hipercolesterolemia (35).

- Prevención de la hipertensión: Hay evidencia de que la lactancia materna puede proteger contra la presión arterial alta en la edad adulta. Estudios previos objetivaron que los niños tenían una reducción de 0.2 mmHg en la presión arterial sistólica por cada tres meses de lactancia materna (36). La reducción en la presión arterial, aunque pequeña, es significativa y puede tener importantes implicaciones para la salud pública.

- Prevención de la muerte súbita del lactante: Los estudios con una definición clara del grado de lactancia materna y ajustados por factores de confusión y otros riesgos conocidos para el síndrome de muerte súbita del lactante (SMSL) señalan que la lactancia materna está asociada con un riesgo reducido de un 36% en el SMSL (37).

- Beneficios en la salud materna: Los beneficios para la salud de las madres que amamantan incluyen amenorrea de lactancia, disminución del sangrado posparto, involución temprana del útero, pérdida de peso postparto y protección contra el cáncer de ovario y cáncer de mama. Cuanto más tiempo amamanten las mujeres, más estarán protegidas contra el cáncer de mama. La lactancia materna también le da a la madre una sensación de satisfacción y mejora el vínculo materno-infantil (38).

Contraindicaciones

- Virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA): El VIH tipo 1 se puede transmitir a través de la LM. Numerosos estudios han documentado tasas variables de transmisión por la LM. Señalan muchos posibles factores que contribuyen a estas tasas variables, incluida la cepa de

VIH, el estado inmunitario y la carga viral, la duración de la lactancia (momento de la transmisión), infección primaria de la madre durante el período de lactancia, lactancia materna exclusiva versus alimentación mixta, mastitis y la falta de terapia antirretroviral (39). En general, los diversos estudios informan de tasas entre 5% y 20% sin controlar los posibles factores contribuyentes y un mayor riesgo de 29% (15–53%) cuando la madre adquiere la infección por VIH justo antes o durante el período de lactancia (40).

El Comité de la Academia Americana de Pediatría (AAP) sobre SIDA pediátrico ha sugerido que las mujeres deben ser conscientes de los riesgos de transmisión del VIH durante el embarazo y la lactancia. Alientan a todas las mujeres a conocer su estado de VIH y a buscar atención prenatal temprana y, más específicamente, las alientan a recibir medicamentos antivirales adecuados. También recomiendan que se aconseje a estas madres que no amamante ni proporcione su leche a ningún bebé.

- Virus linfotrópico de células T humanas (HTLV): HTLV-1 y HTLV-2, que causan leucemia o linfoma y trastornos neurológicos crónicos, están asociados con una transmisión significativa a través de la lactancia materna porque ambos están presentes en la LM, asociados con una mayor duración de la lactancia materna, y demuestran un mayor riesgo de transmisión en comparación con los lactantes alimentados con fórmula. Actualmente no hay intervenciones inmunológicas o farmacológicas disponibles para prevenir las infecciones por HTLV I y II; sin embargo, una menor duración de la lactancia materna, congelación y descongelación de la LM, y evitar la LM si la madre tiene la infección han mostrado una disminución de la transmisión al lactante (41).

- Galactosemia: Las galactosemias son un grupo de enfermedades genéticas del metabolismo de los carbohidratos, todas ellas con un modo de transmisión autosómico recesivo, que tienen origen en una deficiente actividad de una de las cuatro enzimas de la vía de Leloir, siendo posible definir cuatro tipos: galactosemia por déficit de galactosa uridil-trasferasa, galactoquinasa, UDP-galactosa-4-

epimerasa y galactosa mutarotasa. Se identifican en algunos países/regiones por cribado neonatal (entre ellas Galicia). En todos los tipos de galactosemia, la base del tratamiento es la retirada de la lactosa y la galactosa de la dieta y en los casos de cuadro tóxico grave incluso antes de confirmar el diagnóstico, sólo con la sospecha clínica o la detección por cribado. Puede ser apropiado en los primeros 14 días de vida evitar cualquier leche o fórmula que contenga lactosa (extraer y guardar la leche materna para un posible uso posterior) hasta que se pueda hacer el diagnóstico genético exacto.

- Consumo materno de tóxicos: En general, los medicamentos administrados a las madres lactantes aparecen solo en pequeñas cantidades en la leche materna, generalmente <1% de la dosis materna. La mayoría de los medicamentos son seguros en el niño amamantado. Sin embargo, varios medicamentos, debido a su alta excreción en la leche materna y su toxicidad, deben evitarse durante la lactancia: litio, amiodarona, clofazimina, lamotrigina, ergotamina, mefloquina, ganciclovir, ciclosporina, anticonvulsivantes, anticoagulantes, antidepresivos, tetraciclina, sulfamidas, sales de oro, metronidazol y salicilatos, que pueden tener efectos en algunos lactantes amamantados y pueden ser motivo de preocupación. Por lo general, se puede encontrar un medicamento alternativo seguro. Se debe evitar la bromocriptina durante la lactancia ya que puede inhibir la producción de leche (42).

1.1.3 La lactancia materna en los RN prematuros

En el caso de los niños prematuros es importante proporcionar suficientes nutrientes para apoyar la tasa de crecimiento extrauterino y un desarrollo neurológico adecuado. Estudios recientes sobre el efecto de la nutrición postnatal temprana revelan que la tasa de aumento de peso corporal de los RN prematuros se ve afectada por la cantidad de calorías en la dieta, y el crecimiento del perímetro craneal y la longitud están influenciados por la cantidad de proteína administrada (43). Otros estudios han demostrado que la LM suministrada a los bebés prematuros tiene numerosos efectos beneficiosos, como mejoras

en la defensa del huésped, la función gastrointestinal y el desarrollo neurológico (44). Por lo tanto, es importante cuantificar con precisión los componentes de nutrientes que se dan a los bebés prematuros.

Sin embargo, puede no contener la cantidad suficiente de energía, proteínas, minerales y vitaminas para cubrir las elevadas necesidades nutricionales en esta etapa, precisando su fortificación

Composición: La leche de las mujeres que dan a luz prematuramente difiere de la de las mujeres que dan a luz a término. La leche prematura es inicialmente más alta en proteínas, grasas, aminoácidos libres y sodio, pero durante las primeras semanas después del parto estos niveles disminuyen. El contenido mineral (incluidos los minerales traza) de la leche pretérmino es similar al de la leche a término, con las siguientes excepciones: el Ca es significativamente menor en la leche pretérmino que la leche a término y no parece aumentar con el tiempo, mientras que el contenido de cobre y zinc es mayor en la leche prematura que la leche a término y disminuye con el tiempo de la lactancia.

La lactosa es el principal carbohidrato en la LM. Este disacárido es una fuente de energía importante, es relativamente bajo en calostro y aumenta con el tiempo, con aumentos más importantes en la leche prematura. Los oligosacáridos complejos son los segundos carbohidratos más abundantes en la LM. Estos oligosacáridos no son digeribles por las glucosidasas del huésped y, sin embargo, la madre los produce en grandes cantidades con estructuras muy variables.

Los oligosacáridos parecen tener 3 funciones importantes:

- De prebiótico, con estimulación de las bacterias comensales que contienen las glucosidasas bacterianas, promoviendo una colonización intestinal saludable,
- Como señuelo, ya que la similitud estructural con los glucanos en los enterocitos permite que los oligosacáridos se unan competitivamente a los patógenos, bloqueando su adhesión a las superficies epiteliales del intestino.

- Proporcionar el suministro de fucosa y ácido siálico, que parecen ser importantes en la defensa del huésped y en el desarrollo neurológico, respectivamente (45).

La leche prematura es muy variable en el contenido de oligosacáridos con diferencias entre las poblaciones y una variabilidad significativa entre cada madre de forma individual. Los glicosaminoglicanos también parecen actuar como señuelos, proporcionando sitios de unión para bacterias patógenas para prevenir la adherencia al enterocito. La leche prematura es más rica en glucosaminoglicanos que la leche de término.

Por otra parte, las moléculas bioactivas en la LM son componentes importantes del sistema inmune innato. Las diferencias en las citocinas, los factores de crecimiento y la lactoferrina entre la leche pretérmino y la leche a término son más drásticas en el calostro y la leche temprana y se resuelven principalmente a las 4 semanas después del parto.

Fortificación: Existe una gran variación en el contenido de energía y proteínas de la LM entre madres, y a lo largo de la lactancia. El contenido de proteínas disminuye con el tiempo de la lactancia y es probable que sea mucho menor en la LM donada que en la leche de madres que dan a luz prematuramente. Las prácticas actuales a menudo se basan en la suposición de que la LM tiene aproximadamente 0,67 kcal / ml con un contenido estable de proteínas. La ingesta de proteína "supuesta" de la fortificación estándar es significativamente menor que la ingesta de proteína real. Estas observaciones han llevado a realizar ensayos clínicos de fortificación "individualizada", es decir, ajustando la cantidad de proteína agregada en base a mediciones reales de muestras de leche o en función del metabolismo con parámetros indicativos de la acumulación de proteínas en el neonato (p. ej., nitrógeno ureico en sangre). Ambos métodos condujeron a una mayor ingesta de proteínas y un mejor crecimiento (46).

Sin embargo, el uso de fortificadores comerciales de la LM no está exento de complicaciones. Los fortificantes de la LM también se han asociado con un aumento de los marcadores de estrés oxidativo en comparación con LM no fortificada y con fórmula infantil. Además, la contaminación bacteriana de las fórmulas en polvo en el fortificante ha sido descrita (47).

Beneficios:

- Factor protector frente a la enterocolitis necrosante (NEC): La NEC es la causa más frecuente y grave de morbilidad y mortalidad gastrointestinal en RN prematuros. La incapacidad para defenderse adecuadamente contra los microorganismos patógenos y regular la inflamación, contribuye a las altas concentraciones sistémicas de mediadores inflamatorios (interleucina [IL] -1, IL-6, IL-8 y factor de necrosis tumoral [TNF] α). Los estudios han demostrado que los RN prematuros, incluidos los recién nacidos muy prematuros (<32 semanas), alimentados con LM o LM donada tienen una menor incidencia de NEC. Esto sugiere que los componentes en la leche modulan esta condición, posiblemente a través de sus propiedades inmunes (48).

- Disminución de alergias y atopía: Las alergias y otras enfermedades atópicas (asma, rinitis alérgica y dermatitis atópica) se observan con mayor frecuencia en los niños prematuros y se cree que son el resultado de no poder desarrollar tolerancia a determinados antígenos. Al nacer, el sistema inmunitario se caracteriza por una respuesta predominante de citoquinas T-helper (Th2) y la maduración durante la infancia se asocia con una respuesta Th1 mejorada, que no produce una respuesta local ni sistémica al antígeno y se denomina tolerancia. Se presume que el mantenimiento de una respuesta Th2 exagerada (producción de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13) sobre una respuesta Th1 (es decir, IL-2, interferón [IFN] γ , y TNF- α) aumenta el riesgo de alergias y otras enfermedades atópicas. Se ha demostrado que la alimentación con leche materna promueve el desarrollo de tolerancia en el lactante y se asocia con un menor riesgo de alergias, incluida alergia alimentaria, asma y dermatitis atópica (49).

- Menor tasa de displasia broncopulmonar: La displasia broncopulmonar (DBP) ocurre en aproximadamente en el 20% de los recién nacidos prematuros. El desarrollo de DBP se atribuye comúnmente al deterioro de las respuestas inmunes innatas, una respuesta predominante de Th2 y la disregulación de la inflamación. La lactancia materna exclusiva se asocia con una menor incidencia de DBP, y el suministro de leche materna de donantes reduce la incidencia de DBP entre los recién nacidos prematuros (50).

- Menor tasa de retinopatía de la prematuridad (ROP): La ROP es una causa importante de ceguera, y los bebés prematuros tienen un mayor riesgo. Se hipotetiza que la baja concentración de LC-PUFAS junto con una respuesta inflamatoria exagerada y mal regulada están involucradas en la patogénesis de la ROP. Recientemente, una revisión sistemática concluyó que cualquier exposición a la LM protegía a los recién nacidos prematuros de la ROP, lo que sugiere un papel para los LC-PUFAS n-3 y los factores que regulan la inflamación presente en la LM (51).

- Desarrollo neurológico: Los estudios a largo plazo con seguimiento de niños prematuros hasta la adolescencia sugieren que los resultados de las pruebas de inteligencia, el desarrollo de la sustancia blanca y los volúmenes cerebrales totales son mayores en los sujetos que recibieron leche materna al nacimiento. Además, los recién nacidos extremadamente prematuros que reciben la mayor proporción de LM en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) tuvieron puntajes significativamente mayores para las capacidades mentales, motoras y de comportamiento a las edades de 18 meses y 30 meses. Estos datos siguen siendo significativos después del ajuste por factores de confusión, como la edad materna, la educación, el estado civil, la raza y las morbilidades infantiles (42).

- Menor tasa de síndrome metabólico: Los estudios a largo plazo de RN prematuros también sugieren que la alimentación con LM se asocia con tasas más bajas de síndrome metabólico y, en la adolescencia, con presiones sanguíneas más bajas y una disminución

en la concentración de lipoproteínas de baja densidad, así como un menor riesgo de resistencia a la insulina (52).

- Vínculo madre-hijo: En el caso de un parto prematuro, el sentimiento de culpa y derrota de una madre por no haber podido llevar el embarazo hasta el término y la preocupación de no poder cuidar a una criatura tan pequeña y frágil también se asocia con estrés y problemas de salud. En este caso, la lactancia materna crea un vínculo emocional significativo y una sensación de satisfacción en las madres. Los beneficios de la lactancia materna superan los aspectos puramente nutricionales y pueden considerarse parte de la atención neonatal y del programa NIDCAP (Newborn Individualized Developmental Care and Assessment Program) (53).

1.1.4 Leche materna donada

La LM es la primera opción para todos los recién nacidos, incluidos los recién nacidos prematuros, y, cuando no está disponible o no es suficiente la leche materna donada (LMD) es una alternativa válida. La AAP recomienda que se use LMD pasteurizada, debidamente fortificada, si la LM no está disponible o si su uso está contraindicado (42).

El objetivo principal en la nutrición para los neonatos con muy bajo peso al nacer es la provisión de la LM, con LMD como un puente o soporte mientras la LM está disponible o aumenta de volumen. Es importante alentar y ayudar a las madres a extraer leche y proporcionar su propia leche siempre que sea posible y al máximo volumen posible.

El beneficio mayor del uso de LMD vs. FI en la alimentación infantil del prematuro es la reducción en la incidencia de NEC. La alimentación con leche de fórmula confiere una relación de riesgo de 2,77 o superior para el desarrollo de NEC en comparación con la leche de donantes. También se ha observado una reducción en la incidencia de sepsis y de displasia broncopulmonar (48)

Se han establecido directrices específicas para optimizar el funcionamiento de los bancos de LMD mediante la estandarización de la organización, la gestión y los procedimientos en estos bancos. Los bancos de LMD no solo están destinados a recolectar, procesar y almacenar leche donada, sino que también representan un instrumento para la promoción y el apoyo a la lactancia materna.

Pasteurización:

Es necesaria para inactivar la mayoría de los agentes virales y bacterianos, pero afecta parcialmente a las propiedades nutricionales e inmunológicas de la leche materna. La pasteurización es altamente efectiva para disminuir el riesgo de transmisión de VIH, citomegalovirus, hepatitis B y hepatitis C. Sin embargo, es un hecho bien reconocido que la leche pasteurizada mantiene algunos de los efectos beneficiosos y protectores de la LM. El método de pasteurización de Holder actualmente recomendado (62.5°C durante 30 minutos) produce una disminución significativa de la inmunoglobulina secretora A, lactoferrina, lisozima, factores de crecimiento similares a la insulina, factor de crecimiento de hepatocitos, vitaminas solubles en agua, lipasa estimuladora de las sales biliares, lipoprotein-lipasa, pero no disminuye los oligosacáridos, los LC-PUFAS, los gangliósidos, la lactosa, las vitaminas liposolubles o el factor de crecimiento epidérmico. La pasteurización a alta temperatura y corto tiempo (72°C – 75°C durante 15–16 segundos) ha demostrado que elimina las bacterias y muchos virus con menos pérdida de proteínas (incluido el mantenimiento de la lipasa, lactoferrina y algunas inmunoglobulinas), con pérdida menos severa de actividad antioxidante pero mayor pérdida de actividad antimicrobiana (54).

El proceso de pasteurización destruye las células, como los neutrófilos y las células madre, y afecta a los macronutrientes y a los factores antiinflamatorios. Además, la pasteurización puede eliminar las cepas bacterianas con propiedades probióticas. Los componentes bioactivos de la LM, incluidas la lactoferrina e inmunoglobulinas, disminuyen sustancialmente por la pasteurización, pero hay mucho menos efecto sobre los macro o micronutrientes, incluidas las vitaminas (55) (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos de la pasteurización en los componentes de la leche

COMPONENTES	REDUCCIÓN Nº Y/O ACTIVIDAD	CONSERVACIÓN
Sistema Inmune	Complemento C3 IgG IgA IgM Lactoferrina Lisozima	
Componentes celulares	Linfocitos T y B Leucocitos	
Enzimas y factores de crecimiento	α 1-antitripsina Lipoprotein lipasa Lipasa estimulante de sales biliares Esterasa	Amilasa TGF α TGF β 2 Suero:caseína ratio (\downarrow relativa al suero)
Nutrientes	Ácido Fólico Vitamina A Vitamina B1 Vitamina B2 Vitamina C	Oligosacáridos Lactosa Biotina Niacina Ácido pantoténico Vitamina B6 Vitamina D Vitamina E Zinc (redistribución)

Ig: Inmunoglobulina; TGF: Factor de crecimiento transformante

1.2 LECHE DE FÓRMULA

La alternativa en todos los RN que no pueden recibir LM propia o LMD, son las fórmulas infantiles, producidas a partir de leche de vaca a nivel industrial. La composición de las fórmulas infantiles se adapta constantemente con el fin de proporcionar una nutrición similar a la de la LF. La norma recientemente actualizada de la Agencia de EEUU de Administración de Alimentos y Medicamentos sobre las Buenas Prácticas de Manufactura actuales para fórmulas infantiles, (21 CFR 106.96) (56) requiere, entre otros factores, que las fórmulas satisfagan los factores de calidad del crecimiento físico normal y una calidad biológica suficiente del componente proteico. El proceso de

fabricación está altamente regulado para cumplir con los criterios de calidad nacionales e internacionales (57).

Con las directrices de la OMS, las agencias federales y locales de diferentes países controlan y monitorizan las regulaciones de fórmulas infantiles, incluidos los requisitos de calidad y prácticas de fabricación en sus propios países. Desde la perspectiva de los fabricantes, les conviene mejorar continuamente sus productos para que estén lo más cerca posible de la leche materna.

1.2.1 Composición

Las LF deben incluir cantidades adecuadas de agua, carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y minerales. Su composición está estrictamente regulada, y cada fabricante debe seguir las pautas establecidas por las agencias gubernamentales. Tanto la AAP como la ESPGHAN establecen regularmente pautas de requerimientos de estas fórmulas, con actualizaciones periódicas. Por ejemplo, todos los macro y micronutrientes agregados a la fórmula tienen un rango de valores mínimos y máximos para su efectividad. El rango requerido de cada nutriente debe mantenerse a lo largo de la vida útil del producto. Para los aminoácidos, solo se pueden agregar formas L de aminoácidos, mientras que las formas D no están permitidas porque pueden causar acidosis D-láctica. La fructosa se debe evitar. Las grasas y aceites hidrogenados tampoco están permitidos. La radiación ionizante del producto de fórmula no está permitida porque podría causar el deterioro del producto. La fórmula infantil preparada lista para el consumo debe contener no menos de 60 kcal (250 kJ) y no más de 70 kcal (295 kJ) de energía por 100 ml (58).

En las fórmulas infantiles estándar, la fuente de proteínas es la leche de vaca, la lactosa es la principal fuente de carbohidratos y las grasas provienen de una mezcla de aceites vegetales. Las fórmulas infantiles estándar están disponibles en polvo o concentrados líquidos para mezclar con una cantidad predeterminada de agua. Tanto los preparados en polvo como los concentrados permiten que la fórmula

se mezcle con menos agua para proporcionar un alto contenido calórico cuando sea necesario. El Fe es un mineral esencial, y la AAP actualmente recomienda que desde el nacimiento hasta el año de vida se use una fórmula estándar fortificada con Fe para todos los bebés que no son amamantados. Debido a que los niveles de LC-PUFAS, específicamente, el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido araquidónico (ARA), estaban más elevados en el cerebro de los lactantes amamantados en comparación con los preparados de fórmula anterior, se incluyen desde 2002 los LC-PUFAS en la mayoría de las fórmulas para lactantes estándar comercializadas para lograr una mejora del desarrollo visual y del desarrollo neurológico de los lactantes.

Los bebés alimentados con LF reciben niveles notablemente más altos tanto de oligoelementos como de metales tóxicos, en comparación con los estimados en la ingesta a través de la lactancia materna (1). Por lo tanto, y debido a la importancia de una ingesta adecuada de micronutrientes en la vida temprana, y los cambios evolutivos en dietas y ambientes en cada población, el estudio de los oligoelementos en la leche infantil sigue siendo relevante para la salud pública.

En los últimos años se han publicado diferentes estudios con mediciones de la concentración de oligoelementos y metales tóxicos en la LM de mujeres de diferentes países, con diferentes técnicas analíticas (59-61). Sin embargo, no hay ningún estudio amplio de los niveles de todos los elementos esenciales comparando LM con fórmulas de inicio.

1.2.2 Tipos de leche de fórmula

- Fórmulas a base de leche de vaca de inicio y continuación: La leche bovina es la base de la mayoría de las fórmulas infantiles. Sin embargo, la leche bovina contiene niveles más altos de grasa, minerales y proteínas en comparación con la LM. Por lo tanto, la leche de vaca debe desnatarse y diluirse para parecerse más a la composición de la LM. Para lograr una calidad proteica semejante a la

LM, no sólo se disminuye el contenido de proteínas proveniente de la leche de vaca, sino que también se reemplaza parte de la caseína (proteína predominante) por proteínas del lactosuero ricas en lactoalbúmina y albúmina bovina, obteniéndose así una relación caseína/suero de 40/60, más semejante a la de la leche de madre. En el caso de los hidratos de carbono, en las fórmulas de inicio está permitida una pequeña cantidad de glucosa y dextrinomaltosa, pero no deben estar presentes ni almidón ni sustancias espesantes, que sí estarían presentes en algunas fórmulas especiales. La fórmula infantil a base de leche de vaca contiene aceites vegetales añadidos, vitaminas, minerales y hierro para el consumo de la mayoría de los bebés saludables a término. Según la AAP, los niños menores de un año de vida no deben ser alimentados con leche de vaca cruda, sin modificar o sin pasteurizar como sustituto de la LM (42). Además, la leche no modificada no proporciona suficiente vitamina E, hierro ni ácidos grasos esenciales.

Las fórmulas con un contenido de proteínas de 2–2.5 g/100 mL y una relación proteína/energía <3 g/100 kcal se usan para lactantes a término. El mayor contenido de proteínas en la fórmula infantil se asocia con un aumento de peso excesivo en la infancia, lo que puede conducir a un riesgo del 20% de obesidad a largo plazo (63, 64).

La leche de vaca es una de las causas más comunes de alergia alimentaria. Por lo general, las reacciones clínicas se inician muy temprano en la vida, generalmente cuando la lactancia materna se ha detenido y la leche de vaca se introduce en la dieta.

- Fórmulas para prematuros: Están diseñadas para satisfacer las necesidades de los bebés prematuros y de bajo peso al nacer. Estas fórmulas están basadas en proteínas de leche de vaca. La proteína está intacta y predomina el suero, con un producto que es suero parcialmente hidrolizado. La fuente de carbohidratos es la lactosa con algunos polímeros de glucosa, y algunas de las grasas son triglicéridos de cadena media (MCT). La composición de micronutrientes proporciona más Ca y P según sea necesario para soportar un crecimiento similar al crecimiento intrauterino y la acumulación de hueso (Tabla 3) (65).

Tabla 3. Composición de la leche materna, fórmula de prematuro y fórmula de inicio estándar

	Leche materna	Fórmula de inicio	Fórmula de prematuro
Energía (kcal/dL)	65-70	65-70	80-85
Proteínas (g/dL)	1	1,5	2,5
H. de C. (g/dL)	7	7,5	8,5
Lípidos (g/dL)	3,5	3,5	4,5
Calcio (mg/dL)	25	55	140
Fósforo (mg/dL)	15	30	75
Hierro (mg/dL)	0.4	12	15

H. de C.: Hidratos de carbono

- Fórmulas de hidrolizados de proteínas: llamadas también “semielementales”, se desarrollaron inicialmente para tratar problemas de mala digestión-malabsorción. En el momento actual la indicación principal es la alergia a proteínas de leche vaca.

Existen varios tipos de fórmulas hidrolizadas: extensamente hidrolizadas y parcialmente hidrolizadas. En las fórmulas extensamente hidrolizadas las proteínas están en forma de péptidos y el 100% tiene un peso molecular inferior a 5.000 dalton; los hidratos de carbono están en forma de dextrinomaltosa, almidón y polímeros de glucosa y los lípidos en forma de triglicéridos de cadena media. En las fórmulas parcialmente hidrolizadas las proteínas están poco hidrolizadas (entre 5.000 y 12.000 dalton) y la concentración de hidratos de carbono, lípidos y minerales es similar a la de las fórmulas adaptadas; estas fórmulas están especialmente pensadas para evitar sensibilizaciones a las proteínas de leche de vaca en pacientes predisuestos (historia familiar de atopia).

- Formulas elementales: Su alta osmolaridad, la falta de estudios que documenten la absorción de aminoácidos y vitaminas, el mal sabor y el alto coste hacen que su uso esté restringido a casos de malnutrición grave. Compuestas por L-aminoácidos, triglicéridos de cadena media y aceite de maíz. Como hidratos de carbono aportan dextrinomaltosa o polímeros de glucosa.

- Fórmulas sin lactosa: Las fórmulas sin lactosa derivan de la leche de vaca, pero en ellas se ha sustituido la lactosa por dextrinomaltoza o por polímeros de glucosa. La intolerancia a la lactosa ocurre cuando la cantidad de lactasa es inadecuada, lo que resulta en la incapacidad de digerir la lactosa adecuadamente.

- Formulas anti-reflujo: Estas fórmulas se caracterizan por llevar carbohidratos complejos como espesante, lo que mejora la clínica de regurgitación. El almidón, utilizado frecuentemente, no debe superar el 30% del total de carbohidratos. Tienen disminuido el contenido en grasas y mantienen el contenido en lactosa.

1.3 ANÁLISIS DE LOS MICRONUTRIENTES DE LA LECHE MATERNA Y LA LECHE DE FÓRMULA

Los micronutrientes son elementos esenciales que los seres vivos, incluido el ser humano, requieren en pequeñas cantidades a lo largo de la vida para realizar una serie de funciones metabólicas y fisiológicas para mantener la salud.

Son considerados micronutrientes tanto los minerales como los oligoelementos, y son fundamentales para el desarrollo adecuado del niño. Son esenciales en la formación y regeneración de tejidos, así como en la regulación de la mayoría de las funciones de los sistemas del cuerpo, lo que puede llevar a enfermedades y malformaciones graves en situaciones de deficiencia de alguno de estos elementos. Muchos de estos micronutrientes también están involucrados en las funciones de defensa de nuestro organismo (6).

Contrariamente a la generalidad de los macronutrientes, está documentado que cuando la nutrición materna es inadecuada, pueden ocurrir cambios significativos en la composición de la leche para algunos de sus micronutrientes (por ejemplo: sodio, potasio, cloruro, P, cobre (Cu), zinc (Zn), Mn y Fe). La correlación entre los niveles de minerales en la LM y la dieta de la madre varía de un elemento a otro, y en algunos casos está fuertemente relacionada con la ingesta y las

reservas corporales de la madre. Estos cambios tienen implicaciones importantes para el crecimiento y desarrollo de los lactantes amamantados (66).

- Los minerales son elementos nutricionales conocidos como los principales materiales de construcción celular y estructural que participan en la regulación osmótica y el equilibrio ácido/base [Ca, potasio (K), sodio (Na), P, magnesio (Mg), y cloro (Cl)].
- Los oligoelementos generalmente tienen roles biológicos y valor nutritivo [yodo (I), selenio (Se), Mn, Zn y cobalto (Co)].
- Algunos oligoelementos aún tienen un impacto beneficioso desconocido o limitado / restringido sobre las funciones metabólicas y fisiológicas [flúor (F), boro (B), sílice (Si), níquel (Ni), vanadio (V), litio (Li), y antimonio (Sb)].
- Algunos otros elementos son aditivos regulados: aluminio (Al) o pueden ser también contaminantes tóxicos estrictamente controlados con efectos negativos conocidos para la salud, como As, Cd, Pb, mercurio (Hg) y estaño (Sn).

El análisis de minerales en muestras de alimentos generalmente requiere un paso preliminar de preparación de la muestra, que incluye un paso de disolución u homogeneización de la muestra de laboratorio, luego una recolección de una porción de prueba representativa y finalmente descomposición mediante digestión en caliente asistida por ácido o alcalino con o sin alta presión.

Hace treinta años, la potenciometría con electrodos selectivos de iones (ISE), la titrimetría, la espectrofotometría y la voltamperometría de separación anódica (ASV) fueron técnicas históricas y tradicionalmente elegidas para la determinación de minerales en fórmulas infantiles y productos lácteos; generalmente solo necesitaban una disolución de matriz con agua o tampón y no requerían descomposición de matriz preliminar usando técnicas de digestión. Los métodos oficiales más antiguos se basan principalmente en estas

técnicas, pero sufren interferencias analíticas específicas y sus limitaciones para la determinación de un solo analito. Hoy en día, la técnica de digestión más utilizada para minerales y oligoelementos es la digestión a alta presión utilizando un sistema de microondas de vaso cerrado. Permite un alto rendimiento de la muestra, minimiza significativamente las pérdidas durante la oxidación, evita cualquier reacción entre minerales y recipientes, y reduce el riesgo de contaminación (principalmente para oligoelementos) antes de la medición analítica (67).

El acoplamiento de una fuente de ICP (inductively coupled plasma) con un espectrómetro de masas (ICP-MS) es actualmente la mejor tecnología para el análisis de minerales en muestras de digestión de alimentos. La tecnología ICP-MS es definitivamente la técnica multianalito de elección para obtener límites de detección instrumental equivalentes o mejores en solución (es decir, ng/L) (68). Además, los detectores ICP-MS permiten analizar muestras juntas con concentraciones de analito variables debido a su amplio rango de trabajo analítico (es decir, 9 órdenes de magnitud). La combinación de un amplio rango de trabajo analítico y una sensibilidad excelente permite tiempos de análisis ICP-MS cortos, menores requisitos de manejo de muestras, errores analíticos potenciales minimizados y evita la necesidad de recalibrar el sistema con frecuencia en comparación con otras técnicas de espectrometría atómica. Las limitaciones principales del equipo ICP-MS son las altas inversiones iniciales; necesidad de operadores calificados; y el alto costo de los suministros consumibles.

1.3.1 Minerales

- SODIO Y POTASIO

Los cationes electrolíticos Na y K constituyen la bomba de Na-K en la membrana celular, la cual juega un papel importante en el metabolismo. También se ha sugerido que la ingesta precoz elevada de Na predispone a padecer hipertensión (69). Por ello, la

determinación de las concentraciones de Na y K en la LM y en las LF infantiles es de gran interés médico.

Una dieta adecuada de K es importante para la salud del corazón y de los huesos. Cuantitativamente, el K es el electrolito principal en el espacio intracelular donde está presente como ión de potasio soluble en agua (K^+) y sirve para mantener la presión osmótica, la homeostasis de los electrolitos y el equilibrio ácido-base. Al mantener una alta concentración de potasio intracelular, la $Na^+ / K^+ -ATPasa$ genera un potencial de membrana. El control de este gradiente electroquímico es esencial para la transmisión de los impulsos neurales y, por lo tanto, para la contracción muscular, la función cardíaca y la regulación de la presión arterial. Además, el K es un cofactor de varias enzimas involucradas en la síntesis de proteínas y glucógeno y, por lo tanto, juega un papel crucial en el crecimiento.

La proporción de Na:K de la LM disminuye drásticamente a medida que la lactancia progresa a través de las etapas de producción de leche: calostro, transición y madura (70). Se espera que esta proporción disminuya rápidamente, a partir del día 3 posparto, y siga disminuyendo hasta el sexto mes si se continúa la lactancia.

El Na, en particular, sigue una rápida trayectoria descendente después del nacimiento como resultado del cierre hermético de la unión, que es esencial para la activación secretora del inicio de la producción copiosa de leche. La relación Na/K es un indicador de lactancia exitosa en la primera semana posparto (71). Se ha detectado que el Na de la LM cae de 60 mmol/L a 10 mmol/L entre los días 1 y 5 postparto. El inicio tardío de la activación secretora se establece como un factor de riesgo para malos resultados de lactancia con altas concentraciones de Na en el día 7, considerado un factor de riesgo para el cese de la lactancia materna (72). La relación Na/K es otro marcador que se ha utilizado históricamente para definir la activación secretora. La relación Na/K es >2 después del nacimiento y luego disminuye a medida que las concentraciones de sodio disminuyen con el cierre de las uniones estrechas. La relación Na/K se ha utilizado para definir bioquímicamente las etapas de la lactancia de la siguiente

manera: >2 en calostro, <2 en leche de transición y $<0,6$ en leche madura. Esto se refleja en los cambios en el transcriptoma de la LM durante este período y, por lo tanto, se considera más preciso que usar el tiempo postparto para definir la etapa de lactancia. Una proporción elevada en el día 7 se asocia con probabilidades 3.3 veces mayores de cese de la lactancia materna.

En los estudios realizados previamente el contenido de sodio de la LM fue más alto inmediatamente después del parto (70.9 ± 11.4 mmol/L), con disminución de los valores después del 2-3° día post-parto (72).

- CALCIO, FÓSFORO Y MAGNESIO

El Ca es un importante nutriente en la LM que contribuye al desarrollo de los huesos, la contracción muscular, la transmisión de los impulsos nerviosos y la coagulación de la sangre. La relación Ca: P es importante para el crecimiento y el desarrollo óseo durante la infancia. El mantenimiento de la homeostasis óptima del calcio y el fósforo depende de la absorción en el intestino, la acumulación y reabsorción del esqueleto y la excreción en la orina, además del estado de la vitamina D y la ingesta dietética.

La escasa ingesta de Ca en lactantes se ha asociado con raquitismo, aunque clásicamente la enfermedad es causada por un déficit nutricional de vitamina D. Se cree que la ingesta elevada de fósforo contribuye a la hipocalcemia y fracturas en niños. En la actualidad se considera óptima una relación molar de Ca: P entre 1: 1 y 2: 1. Hipotéticamente, el ratio Ca: P bajo puede afectar negativamente el equilibrio del metabolismo del Ca, lo que posteriormente puede aumentar el riesgo de fractura ósea y osteoporosis.

El Ca y el Mg de las leches infantiles se asocian principalmente a la caseína (73). Sin embargo, en la LM una proporción relativamente elevada de Ca (16%) está formando parte de la fracción lipídica. En la fracción acuosa, la mayoría del Ca y el Mg están asociados con las proteínas del suero o con compuestos de bajo peso molecular. En la LM hay poco Ca ligado a la caseína (74). Estas diferencias en la

estructura química de las especies constituyentes del contenido en Ca de las leches explican la elevada biodisponibilidad del Ca de la LM. Poiffait y Adrián (75) indican que el Ca de la LM es más biodisponible que el de la leche de vaca, debido probablemente al mayor contenido de Ca libre. Sin embargo, Shen et al. (76) encuentran que la biodisponibilidad del Ca no varía significativamente entre la leche de vaca, la humana y la de cabra, y que se encuentra entre 18% y 23%.

Otros nutrientes que se encuentran en los alimentos también pueden afectar la biodisponibilidad del Ca, por ejemplo, el Zn y el Fe. Por lo tanto, es importante considerar la interrelación de los nutrientes en la dieta.

Las principales fuentes de Ca en la LM son la liberación de Ca a través del aumento de la reabsorción ósea durante la lactancia, la regulación positiva de la absorción intestinal de Ca y, en menor medida, la ingesta alimentaria (77). Durante la lactancia, las glándulas mamarias tienen niveles aumentados del receptor de detección de calcio y secretan proteínas relacionadas con la paratohormona (PTHrP). La PTHrP estimula en el hueso la reabsorción para liberar más calcio en la leche materna. Al mismo tiempo, la succión de la mama provoca una inhibición de la secreción de estradiol y progesterona a través del eje de la gonadotropina, lo que acelera la reabsorción ósea. Si cae el suministro de Ca a la glándula mamaria, se produce más PTHrP, que, a su vez, aumenta la salida de calcio del esqueleto materno. Este calcio se retroalimenta en la glándula mamaria para suprimir la producción de PTHrP (78).

La LF tiene concentraciones más altas de Ca y P pero con una menor biodisponibilidad de ambos nutrientes en comparación con la LM. En la LM, el Ca: P es aproximadamente 2:1, con proporciones similares en las fórmulas infantiles; sin embargo, las cantidades absolutas son más altas en fórmulas infantiles. Los niveles de Ca en la LM permanecen constantes durante el primer año; sin embargo, el contenido de P disminuye a lo largo de la lactancia.

La asignación dietética de referencia de Ca para lactantes de hasta 6 meses es de 200 mg/día con el límite superior de 1000 mg/día y para lactantes de 6 a 12 meses de edad es 260 mg / día con el límite superior de 1500 mg/día (79).

El contenido de Ca en la leche materna examinada entre 1950 y 1999 según los estudios de 169 autores varió entre 84 y 462 mg/L (media de 252 mg/L), con valores de Mg de $40,11 \pm 9,75$ mg/L (78).

Por otro lado, con los estudios realizados en leche de fórmula también se puede concluir que para el Ca y P, el límite superior no debe ser superior a las concentraciones utilizadas actualmente: 450-500 mg/L (65-75 mg / 100 kcal) para Ca y 300-400 mg/L (48-58 mg/100 kcal) para el P. Para el Mg, se establece el límite superior para las fórmulas entre 12 mg y 18 mg/100 kcal (80).

1.3.2 Oligoelementos esenciales

- CROMO

La esencialidad del Cr en humanos está bien documentada. El cromo trivalente, forma química principal que se encuentra en los alimentos, es esencial para mantener el metabolismo normal de la glucosa. Se han mostrado síntomas y signos de deficiencia en lactantes que sufren de kwashiorkor o desnutrición proteico-energética (81).

Se ha sugerido que la forma activa del Cr, el llamado "factor de tolerancia a la glucosa", es un complejo de Cr, ácido nicotínico y los aminoácidos glicina, cisteína y ácido glutámico. Bioquímicamente, afecta a la capacidad del receptor de insulina transmembrana para interactuar con la insulina.

El Cr se absorbe predominantemente en el intestino delgado y se transporta en la circulación unido a la albúmina y la transferrina. La concentración de Cr corporal total es el principal control homeostático de su absorción intestinal. La biodisponibilidad dietética del Cr es

muy baja y casi todo el cromo ingerido se excreta a través de las heces (82). La excreción urinaria y biliar son vías alternativas pero limitadas para su metabolismo.

Otros minerales influyen en la absorción y captación celular de cromo. Hay una mayor absorción de cromo en situaciones de deficiencia de Zn y Fe, lo que sugiere que estos minerales compiten por la absorción intestinal, aunque estos efectos son inconsistentes (83).

La deficiencia de Cr causa intolerancia a la glucosa similar a la diabetes mellitus, niveles elevados de ácidos grasos libres en plasma, cambios en el metabolismo del nitrógeno, pérdida de peso, neuropatía y depresión respiratoria (84).

La toxicidad del Cr trivalente es tan baja que no se pudieron observar efectos de la administración de cantidades excesivas de esta especie. El Cr hexavalente, por el contrario, es extremadamente tóxico y se ha establecido como una etiología del cáncer de pulmón relacionada con el trabajo en los trabajadores del acero inoxidable (85).

Hay varios estudios que han publicado las concentraciones de Cr en la leche materna. En un estudio japonés se encontraron valores medios de 6.5 ng/ml (86); por otro lado, varios estudios más recientes indican que las cantidades de Cr en la leche materna de la mayoría de las madres estadounidenses es inferior a 1 ng/ml (87). Además, la concentración de Cr no muestra una variación significativa o exhibe una ligera tendencia ascendente (no significativa) durante el período de lactancia (84).

Las organizaciones pediátricas internacionales encontraron datos insuficientes para recomendar un contenido mínimo o máximo de Cr en las fórmulas infantiles estándar. Se observó que, dado que este micronutriente es de naturaleza ubicua, una fórmula basada en ingredientes alimenticios habituales no necesita ninguna adición de cromo.

En un estudio realizado en España previamente se analizaron 104 fórmulas infantiles comercializadas en nuestro país, encontrando una concentración de Cr media de $9.60 \pm 1.13 \mu\text{g/dL}$, rango (2.06 – 46.50), más alta que la encontrada en la LM madura (88).

- COBALTO

El Co es un componente de la vitamina B12 y se ha relacionado con la síntesis de anticuerpos y la actividad fagocítica en neutrófilos y macrófagos (89).

Hay pocos estudios que hayan analizado los niveles de Co en LM. En uno de ellos se observaron niveles aumentados de Co durante la lactancia (90) y se ha especulado que este aumento esté relacionado con el aumento de las necesidades derivadas de la producción de anticuerpos humorales en los lactantes, que comienza durante el tercer y cuarto mes de vida, cuando ocurre el paso de la inmunidad adquirida pasiva a la inmunidad adquirida activa. Mientras que en otro estudio no se encontraron cambios significativos en los niveles en la LM durante las distintas etapas de la lactancia (91). En ambos estudios, los valores de Co encontrados estaban por debajo $0,04 \mu\text{g/L}$.

- COBRE

El Cu está presente en los tejidos biológicos principalmente en forma de complejos orgánicos, siendo la mayoría de ellos sistemas enzimáticos. Los procesos metabólicos en los que participan las enzimas dependientes del Cu incluyen el uso de oxígeno en la respiración celular y la síntesis de biomoléculas esenciales como las proteínas complejas del esqueleto y los tejidos conectivos de los vasos sanguíneos, y una variedad de compuestos neuroactivos del sistema nervioso central. Se estima que un individuo adulto contiene entre 50 y 120 mg de Cu en su organismo.

El Cu en la sangre se distribuye por plasma y eritrocitos. Los niveles de cobre en plasma en adultos oscilan entre 0,8 y 1,2 mg/L y no se ven afectados significativamente por la alimentación. En las mujeres, son

aproximadamente un 10% más altas y pueden ser tres veces más altas durante el embarazo. En el plasma, aproximadamente el 93% del Cu se une a la ceruloplasmina, una proteína con múltiples funciones, particularmente involucrada en el metabolismo del Fe. El Cu se acumula principalmente en el hígado, especialmente durante el tercer trimestre del embarazo.

En la edad adulta, la deficiencia de cobre se asocia con anemia hipocrómica, neutropenia, hipopigmentación, formación ósea deficiente con osteoporosis y deficiencias vasculares. La deficiencia de este elemento en el lactante está relacionada con síntomas idénticos. Los lactantes prematuros tienden a tener menos reservas de cobre en comparación con los niños nacidos a término (92).

Hay una disminución en la concentración de Cu en la leche durante la lactancia, alcanzando un mínimo de 0.08-0.10 mg/L en la leche madura entre los 6 meses y el año de vida. Esta tendencia es consistente con la mayoría de los resultados publicados por otros autores durante este mismo período de lactancia (93, 94). Aunque Lin et al. informaron de un ligero aumento en la concentración de cobre en la LM durante el primer mes, de 0.25–0.29 mg/L en calostro a 0.37–0.41 mg/L en leche madura (95).

La influencia de la edad y la paridad de la madre en la composición de la LM se han estudiado ampliamente. Los resultados reportados en estudios previos indican que la edad y la paridad de una madre no afectan el contenido de cobre de la LM (96). Arnaud y Favier (97) informaron que la concentración de Cu en la LM está relacionada con el IMC de la madre, y un estudio de Leotsinidis et al. (61) reveló además que los hábitos alimentarios juegan un papel en la determinación de los niveles de minerales en la LM, así como el hábito tabáquico.

Dado que no existe una diferencia importante en la biodisponibilidad entre la LM y las LF en el caso del cobre, la ESPGHAN propone un nivel mínimo de 35 mg/100 kcal en las LF, que es similar al contenido en la LM, y limitar la concentración a un nivel máximo de 80 mg/100

kcal, aproximadamente 3 veces más alto que en la leche materna (59). Por otro lado, las concentraciones medias de Cu observadas en estudios previos en fórmulas infantiles fueron significativamente más altas que las concentraciones medias encontradas en la LM (98).

- YODO

El I es un componente esencial de las hormonas tiroideas tiroxina (T4) y triyodotironina (T3). El I ingerido se absorbe fácilmente en el intestino delgado proximal. El I en la circulación es absorbido por la glándula tiroidea y cualquier exceso es filtrado por los riñones y excretado. Se almacenan cantidades significativas de yodo en la tiroidea como productos intermedios de la vía sintética de la tiroxina y como hormonas finales en sí mismas. La principal ruta excretora del I es la orina; y cualquier pérdida en el tracto gastrointestinal se reabsorbe rápidamente.

Estas hormonas están involucradas en la regulación de diversas enzimas y procesos metabólicos. Los órganos más sujetos a su regulación son el cerebro, los músculos, el corazón, la glándula pituitaria y los riñones en desarrollo. Por tanto, el yodo es absolutamente esencial para la vida de los mamíferos. Dado que el cerebro del RN solo ha alcanzado alrededor de un tercio de su tamaño, continuando su crecimiento acelerado hasta los 2 años de vida, las hormonas tiroideas y el I siguen jugando un papel clave durante este período.

Las poblaciones con deficiencias graves de I presentan un alto riesgo de retraso mental y cretinismo (99).

La ingesta nutricional de I en la mujer lactante (cantidad diaria recomendada) debe ser de 220 $\mu\text{g}/\text{día}$ y la ingesta adecuada de yodo es de 110 y 130 $\mu\text{g}/\text{día}$ durante el primer y segundo semestre de vida, respectivamente (100).

En los estudios realizados previamente en leche materna se encuentran concentraciones de yodo entre 40 y 250 $\mu\text{g}/\text{L}$ (86, 93, 101). Se

observa que la concentración de I en la leche materna está fuertemente correlacionada con la ingesta dietética de la madre y se ve fuertemente reducido por los hábitos de fumar de la madre (102).

Por otro lado, y teniendo en cuenta la ingesta de nutrientes de referencia para lactantes establecida y el rango de contenido de la leche materna, la fórmula para lactantes debe contener de 10 a 50 mg/100 kcal (59).

- HIERRO

El Fe es un componente esencial de varias proteínas, incluidas las enzimas, los citocromos, la mioglobina y la hemoglobina. Casi dos tercios del hierro corporal se encuentran en la hemoglobina de los glóbulos rojos circulantes, involucrados en el transporte de oxígeno. Aproximadamente el 25% se almacena como reservas de rápida movilización y el 15% restante está en mioglobina muscular. Las reservas individuales de hierro tienen una gran influencia en su absorción: Las reservas elevadas inhiben la absorción gastrointestinal de Fe y la absorción se produce en el intestino delgado (100).

La deficiencia de Fe produce anemia, que representa la deficiencia nutricional de elementos esenciales más frecuente. La anemia es también la enfermedad más prevalente en los niños.

Durante los primeros 6 meses después del parto, la concentración de Fe en la leche materna es relativamente estable, oscilando entre 0,21 y 0,27 mg/L. Algunos autores han informado que, después de este período, los niveles de Fe en la leche materna tienden a descender de manera muy significativa a valores entre 0.08 y 0.10 mg/L (94, 95, 103). Otros autores observaron niveles bastante constantes durante la lactancia (61). No se encontraron diferencias asociadas con la edad de la madre, el número de hijos o el número de lactantes previamente amamantados. Asimismo, el contenido de hierro en la dieta materna no mostró una correlación significativa con la concentración de hierro en la leche materna.

En cuanto a la leche de fórmula infantil, según la ESPGHAN el contenido de Fe en los preparados para lactantes a base de proteína de la leche de vaca debe estar en el rango de 0,3 a 1,3 mg/100 kcal. En poblaciones en las que los lactantes corren un alto riesgo de deficiencia de Fe, los contenidos de hierro en los preparados para lactantes superiores a 0,3 mg/kcal pueden ser apropiados (59).

- MANGANESO

El Mn es un nutriente esencial, involucrado en la formación del tejido óseo y en reacciones específicas relacionadas con el metabolismo de los aminoácidos, el colesterol y los carbohidratos.

El Mn se absorbe en todo el intestino delgado, pero el coeficiente de absorción generalmente es muy bajo, posiblemente tan bajo como el 5%. La absorción disminuye después de ingestas dietéticas elevadas o si el estado de manganeso corporal total es bueno. Después de la absorción, el Mn se transporta en la sangre portal unido a la albúmina y la alfa-2-macroglobulina]. Una vez absorbida por el hígado, una parte se excreta rápidamente en la bilis, mientras que otra ingresa en los depósitos mitocondriales, nucleares o lisosomales. Aproximadamente una cuarta parte del manganeso corporal total se encuentra en los huesos. También se encuentran cantidades significativas en tejidos ricos en mitocondrias (hígado, riñón, páncreas) y ricos en melanina (retina, piel pigmentada) (104).

Aunque existen síntomas asociados con la deficiencia de Mn no es posible establecer claramente una relación entre ingestas dietéticas bajas y problemas de salud. Los niveles altos de Mn pueden ser neurotóxicos y afectar principalmente a las partes extrapiramidales del cerebro. Los síntomas son similares a los de la enfermedad de Parkinson e incluyen descoordinación, pérdida del equilibrio y confusión. También se han informado dolores de cabeza, vómitos y disfunción hepática.

En un estudio en mujeres japonesas, describen una concentración de Mn de 10 µg/L en la leche materna con una variabilidad muy baja

durante el período de lactancia. Sin embargo, otros estudios informaron que las concentraciones de la leche materna disminuyen durante la lactancia. Además, se ha observado una correlación directa entre los niveles plasmáticos maternos y la concentración de la LM. También se observó una reducción significativa en el contenido de Mn de la leche durante la lactancia en un pequeño estudio de 29 madres bien nutridas en los Emiratos Árabes Unidos (96).

Por otra parte, en las LF el nivel mínimo recomendado de 1 mg/100 kcal está en el orden de las concentraciones de la LM. No existe una diferencia importante en la biodisponibilidad del Mn entre la LM y la LF. El contenido máximo debe ser de 50 mg/100 kcal, que es aproximadamente 60 veces más alto que los niveles de la LM. Deben evitarse los contenidos más altos de Mn ya que debido a la excreción inmadura de manganeso en los bebés, pueden causar acumulación en tejidos, incluido el cerebro, y pueden inducir efectos adversos potenciales, como anomalías del desarrollo neurológico observadas en animales recién nacidos (105).

- MOLIBDENO

El Mo es un cofactor de un pequeño número de enzimas, como la sulfito oxidasa, la xantina oxidasa y la aldehído oxidasa, implicadas en el catabolismo de aminoácidos azufrados y compuestos heterocíclicos como purinas y pirimidinas. En todas las enzimas, el molibdeno funcional está presente en forma de un componente orgánico, molibdopterina.

Las deficiencias de molibdeno en la dieta se asocian con problemas de crecimiento, trastornos neurológicos y muerte prematura. Por otra parte, su exceso se asocia con un aumento de la susceptibilidad a la gota, hiperuricemia y xantineria.

El molibdeno se ha analizado en varios estudios en muestras de LM. Gunshin et al. objetivaron que la media y el rango de concentración de Mo en la leche materna de 24 mujeres japonesas de 19 a 384 días después del parto fueron de 24 ng/ml y de 5 a 63 ng/ml

respectivamente (80). Un estudio colaborativo internacional de la OMS mostró que la mayoría de las muestras de leche materna de Guatemala, Hungría, Nigeria, Suecia y Zaire tenía una concentración de Mo inferior a 5 ng/ml, mientras que las muestras de leche de Filipinas mostraron valores más altos de Mo (mediana 16,36 ng/ml; rango 6,75 a 35,41 ng/ml) (106). Los valores analíticos actuales de Mo de la leche materna (media 5,42 ng/ml; rango 1 a 25,91 ng/ml) son más bajas que las obtenidas en el estudio de Gunshin o en Filipinas, pero algo más altas que las de los análisis realizados en muchos países fuera de Asia. Dado que el arroz y la soja son ricos en Mo, se espera que la ingesta dietética de Mo de los asiáticos que consumen grandes cantidades de productos de arroz y soja sea mayor que la de los occidentales (107).

- SELENIO

El papel metabólico más conocido del Se en los mamíferos es como componente de la enzima glutatión peroxidasa, que, junto con la vitamina E, la catalasa y la superóxido dismutasa, es un actor clave del sistema de defensa antioxidante del cuerpo. Más recientemente, se ha descubierto su papel en la síntesis de la hormona triyodotironina a partir de la tiroxina (108).

La enfermedad de Keshan es una miocardiopatía asociada con la deficiencia de Se, que afecta principalmente a niños y mujeres en edad fértil. La toxicidad crónica por selenio se caracteriza principalmente por la caída del cabello y cambios en la morfología de las uñas. En algunos casos, hay el desarrollo de lesiones cutáneas y alteraciones del sistema nervioso central, siendo el mecanismo bioquímico desconocido. Existe evidencia de una correlación negativa entre el suministro de Se y la prevalencia de cáncer de mama, próstata, colon, páncreas, pulmón y vejiga (109).

La concentración de Se en la LM depende directamente de la ingesta dietética de Se de la madre. Así, se estudiaron las concentraciones de Se en la LM según la región de residencia de la madre lactante. Se compararon en Venezuela dos regiones ricas en selenio (portuguesas)

y una región de control en el estado de Yuracuy. Se observó un aumento significativo de selenio, de 42,9 $\mu\text{g/L}$ para la región de control a 56,6 y 112,2 $\mu\text{g/L}$ para las dos regiones seleníferas (110). Otros autores informaron niveles de Se en el primer mes entre 12,7 y 32,1 $\mu\text{g/L}$ (92, 94, 99).

Parece haber una correlación inversa significativa entre las concentraciones de Se y Zn en la leche materna. Además, las madres con una mayor ingesta dietética de selenio presentan concentraciones más bajas de Zn en la LM. La disminución de la concentración de zinc en la leche materna se relaciona con la concentración de citrato, que a su vez depende de la concentración de selenio en plasma (110).

En el caso de los prematuros, dado que sus reservas de Se al nacer son escasas, es de suma importancia el aporte de este elemento en concentraciones adecuadas a través de la LM, la cual depende claramente, como se mencionó anteriormente, de aspectos geográficos, la nutrición, la ingesta de la madre y la fase de lactancia (109).

Los contenidos notificados de la LF varían considerablemente, con valores medios en el rango de aproximadamente 0,8 a 3,3 mg/100 kcal y la ingesta de nutrientes de referencia para el selenio en lactantes establecida por diferentes organismos varía de 5 a 30 mg/día, siendo la recomendación de la ESPGHAN para la fórmula infantil el contener de 1 a 9 mg/100 kcal de selenio (58).

En estudios realizados en leche de vaca los resultados muestran que es posible obtener leche enriquecida con selenio a diferentes concentraciones sin alterar la composición original de la leche (111). Los niveles de selenio encontrados estuvieron dentro del rango de 8.5-21 $\mu\text{g/dL}$. Se estudiaron las distribuciones de selenio en las diferentes fases de la leche en 14 muestras de leche entera, hallando los niveles más altos de selenio en el suero de leche (47,2-73,6%), mientras que el nivel más bajo se encontró para la fase grasa (4,8-16,2%) (112).

- ZINC

En la célula, el Zn participa en funciones catalíticas, estructurales y reguladoras. El papel bioquímico del zinc resulta de su presencia en cientos de sistemas enzimáticos y como estabilizador de la estructura molecular de las subestructuras celulares. El zinc participa en la síntesis y degradación de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Desempeña un papel esencial en la expresión génica. El músculo esquelético contiene aproximadamente el 60% del zinc total del cuerpo, siendo la masa ósea responsable de aproximadamente el 30% (113).

El Zn se absorbe principalmente en el duodeno y yeyuno y, en menor medida, en el íleon y el intestino grueso. Durante la digestión, el Zn de la dieta se libera y forma complejos con diferentes ligandos, como aminoácidos, fosfatos, ácidos orgánicos e histidinas. Una vez absorbido, la circulación portal transporta zinc al hígado. La vía de excreción principal de Zn es a través del tracto gastrointestinal y hasta el 10% del Zn circulante también se excreta por la orina. La homeostasis del zinc probablemente se mantiene mediante una combinación de cambios en la absorción fraccionada y la excreción fecal endógena de zinc (114).

La deficiencia severa de zinc se asocia con síntomas clínicos como retraso en el crecimiento, retraso en la maduración sexual y esquelética, dermatitis, diarrea, alopecia, falta de apetito, cambios de comportamiento y mayor susceptibilidad a la enfermedad, como resultado del mal funcionamiento del sistema inmunológico (115). La intoxicación aguda por zinc es poco común. Las manifestaciones son náuseas, vómitos, diarrea, fiebre y letargo. En el caso de exposición crónica al zinc, se produce interferencia con otros elementos, particularmente con el cobre. La interacción Zn/ Cu hace que un exceso de Zn resulte en una reducción de los niveles de Cu (al disminuir su absorción en el tracto gastrointestinal). Debido al antagonismo Zn/Cu, altas concentraciones de zinc en la LM pueden resultar en deficiencia de Cu, ya que el Zn puede inhibir

competitivamente la absorción de cobre en el tracto gastrointestinal del niño (115).

En estudios publicados previamente los niveles de zinc en LM varían de 250 a 3000 $\mu\text{g/L}$. Hay una disminución rápida y significativa de la concentración de zinc en la LM durante todo el período de lactancia, sobre todo durante el primer mes. Esta evidencia está respaldada por varios estudios publicados (91, 92, 116). No hubo diferencias asociadas con el número de hijos de la madre o el historial de lactancia. En cuanto a la edad de la madre, se encontró que la concentración de Zn tiende a aumentar (valores más altos para edades mayores de 30 años). Se observaron valores de zinc significativamente más altos en la LM entre el tercer y el séptimo día en madres con bebés prematuros, en comparación con aquellas con bebés a término (117).

En cuanto a las fórmulas infantiles la ESPGHAN establece un valor mínimo único de 0,5 mg/100 kcal. Dado que las ingestas elevadas pueden interferir con la absorción y el metabolismo de otros micronutrientes, se establece un nivel máximo de 1,5 mg/100 kcal.

1.3.3 Oligoelementos tóxicos

- PLATA

Las nanopartículas de Ag (AgNP) son los nanomateriales más comunes que se encuentran en los productos de consumo debido a sus propiedades antifúngicas, antibacterianas, antivirales y antimicrobianas.

Las nanopartículas de plata están presentes en diversos tipos de productos de consumo (agentes desinfectantes, textiles, materiales de pintura y laca, cosméticos, materiales de embalaje, suplementos alimenticios) y para una variedad de aplicaciones biofarmacéuticas, incluido su uso como agentes antimicrobianos, antiinflamatorios y como herramientas de nanodiagnóstico molecular in vivo. Sin

embargo, las nanopartículas de plata también deben considerarse como una fuente particular de riesgos debido a su toxicidad potencial para los humanos (118). La exposición a la plata está asociada con efectos crónicos para la salud, como la argiria, y no se ha establecido la seguridad de la AgNP (119). La investigación de Johnston muestra que las partículas de AgNP pueden causar inflamación, citotoxicidad y acumularse en el hígado de los humanos, lo que no es adecuado para el uso a largo plazo (120). Esto se aplica particularmente a los riesgos asociados con la influencia de los materiales en el organismo de un niño como resultado de su posible transferencia a través de la placenta y la leche materna.

Debido a que muchos tipos diferentes de productos de consumo contienen AgNP, es importante comprender su liberación de los productos, su potencial de exposición humana y su destino y efectos ambientales.

Pocos estudios han evaluado la liberación de AgNP de productos de consumo para comprender mejor su potencial de exposición humana. Un conjunto de experimentos de Quadros et al. (2013) informaron que entre los 13 productos seleccionados para las pruebas, las telas, un juguete de felpa y los productos de limpieza tenían más probabilidades de liberar plata (121). La mayoría de los estudios reportados en la literatura se han centrado en la liberación al medio ambiente y los efectos ecológicos. Por ejemplo, Benn et al. (2010) evaluaron la probabilidad de que varios productos de consumo diferentes (camisa, mascarilla y tela médica, pasta de dientes, champú, detergente, toalla, oso de peluche, dos humidificadores) liberen AgNP en los medios ambientales (aire, agua, tierra) cuando se lavan con agua. Se liberó plata en cantidades de hasta 45 μg de producto Ag/g, y la microscopía electrónica de barrido confirmó la presencia de AgNP en la mayoría de los productos evaluados, así como en el agua de lavado (122).

Los niños pueden verse especialmente afectados por el uso normal de productos de consumo diseñados específicamente para ellos (por ejemplo, botellas de leche, chupetes, juguetes) o utilizados en entornos domésticos (por ejemplo, limpiadores, pinturas, recubrimientos). El

uso de AgNP en productos de consumo utilizados en el hogar ha resultado en la necesidad de evaluar las posibles exposiciones de los niños a AgNP a través de las vías de exposición dérmicas, de ingestión e inhalación.

Para todos los productos para bebés, esta cantidad de plata liberada se considera segura para los humanos, pero el estándar seguro actual para la plata no tiene en cuenta las propiedades especiales y los efectos a largo plazo de los AgNP en el cuerpo humano. Por lo tanto, el riesgo de exposición de los bebés al entorno de AgNP no está claro (123). Hasta ahora no se han publicado estudios sobre la determinación de AgNP en leche materna y/o fórmulas infantiles.

- ALUMINIO

El Al es ubicuo en el medio ambiente. Está presente en el tejido humano, pero no hay evidencia concluyente de que el aluminio realice alguna función esencial en el organismo humano. No se considera un componente esencial de la dieta, pero se está estudiando para determinar su posible requerimiento y papel en el metabolismo de los tejidos.

Se sabe que el elemento es tóxico. Se han asociado cantidades masivas de ciertas formas de aluminio con la enfermedad pulmonar, y pequeñas cantidades indujeron una encefalopatía progresiva en animales. Sin embargo, una verdadera asociación entre enfermedad y una ingesta excesiva de Al en el cuerpo humano todavía no está completamente confirmada, excepto en casos de insuficiencia renal avanzada (124). El aluminio solo puede eliminarse de la sangre a través de los riñones, y los trastornos renales graves pueden provocar la acumulación de Al en la sangre.

La absorción intestinal de Al puede variar del 0.1% a <5% o 7% según la diferencia entre la ingesta de Al en la dieta y la excreción fecal (125). En el caso de los lactantes, no se han realizado investigaciones sobre el grado de absorción de la ingesta de aluminio en la dieta, pero durante la primera semana de vida, la permeabilidad

intercelular del intestino, la ruta principal para la absorción del aluminio es mayor que en etapas posteriores de la vida (126). En los lactantes, la toxicidad por aluminio ha sido relativamente bien documentada en el caso de neonatos con insuficiencia renal y neonatos prematuros o de bajo peso al nacer (127). Los altos niveles de Al en las fórmulas infantiles se han implicado en la intoxicación por aluminio en dos niños con uremia neonatal (128).

La exposición infantil al aluminio a través de la lactancia materna depende principalmente de la exposición alimentaria de la madre, sin embargo, esta ruta de ingesta de Al encuentra varias barreras fisiológicas. Debido a la barrera de la glándula mamaria, la exposición esperada para los bebés se ve muy atenuada (129).

Independientemente de la amplia variabilidad, el contenido de aluminio en la LM es menor que el encontrado en las fórmulas infantiles, entre 3 y 160 veces menor según hallazgos de nuestro grupo (130). El rango de referencia de aluminio está entre 3 - 79 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en la LM. El conocimiento del contenido de aluminio en la LM sirve como base para formular sustitutos apropiados.

Ha habido una larga y significativa historia que documenta la contaminación de las fórmulas infantiles por el aluminio y los consecuentes efectos sobre la salud en los niños (131). A través de estas y otras publicaciones, los fabricantes de fórmulas infantiles se han dado cuenta de la cuestión potencialmente complicada tanto de la contaminación por aluminio como de la mayor vulnerabilidad, desde el punto de vista de la fisiología en el desarrollo de un recién nacido, de los bebés alimentados con tales fórmulas.

En 2010 Burrell et al. publicaron el contenido de aluminio de 15 productos de fórmula infantil bien conocidos (132). Se concluyó que el contenido de aluminio de las fórmulas infantiles era demasiado alto, por ejemplo, en comparación con la exposición al aluminio a través de la leche materna. Chuchu et al. hallaron que la concentración de Al en cada una de las 30 fórmulas infantiles estudiadas es al menos el doble de la recomendada en la Unión Europea para el agua potable (50

$\mu\text{g/L}$) y en 14 de las leches supera el nivel máximo admisible para el agua potable de $200 \mu\text{g/L}$ (133). Si bien estos valores recomendados para el aluminio en el agua potable, históricamente al menos, no se establecieron en relación con la salud humana como criterio, hoy en día se usan en la práctica general para determinar si las aguas potables son aptas para el consumo humano.

Nuestro grupo de investigación llevó a cabo en el año 1999 un estudio sobre el contenido de Al tanto en LM como en LF infantil. La concentración media de aluminio en la leche materna fue de $23,4 \pm 9,6 \mu\text{g/L}$ y no difirió significativamente entre el calostro, la leche de etapa intermedia y la de etapa madura. La concentración media de aluminio fue de $70 \mu\text{g/L}$ en la leche de vaca y $226 \mu\text{g/L}$ en las fórmulas infantiles reconstituidas. Los experimentos mostraron que la concentración de aluminio en la leche con alto contenido de aluminio podría reducirse en más del 70% en la etapa de fabricación, utilizando componentes con bajo contenido de aluminio. Los resultados del estudio recomendaban que los fabricantes de fórmulas infantiles redujesen la concentración de aluminio en sus productos (130).

A este respecto, dado el posible impacto toxicológico del aluminio en los recién nacidos, es deseable que las fórmulas infantiles sean proporcionalmente similares o inferiores en concentraciones de aluminio a las de la leche materna. De acuerdo con el estado actual del conocimiento sobre la toxicidad del aluminio, es apropiado establecer un valor guía máximo para la fórmula infantil de $30 \mu\text{g/L}$.

- ARSÉNICO

Entre los metales tóxicos, el As es peligroso desde el punto de vista de la salud ambiental, y su existencia en el entorno biológico es una preocupación importante para los investigadores de bioquímica (134).

La exposición crónica al arsénico a través del agua potable se ha considerado un grave problema de salud pública en muchos países. Más de 100 millones de personas en el mundo están crónicamente expuestas al arsénico y la exposición produce resultados adversos para

la salud en humanos. La metilación eficiente de arsénico al ácido dimetil arsénico aumenta la excreción de arsénico del cuerpo, lo que a su vez reduce los riesgos para la salud, mientras que un mayor contenido de ácido monometilarsónico en la orina se asocia con un mayor riesgo de resultados adversos para la salud en adultos (135). Más del 80% del arsénico inorgánico se absorbe a través del tracto gastrointestinal humano, y la excreción se produce principalmente a través de la orina. La IARC (International Agency for Research on Cancer) clasifica los compuestos de arsénico inorgánico, incluidos el trióxido de arsénico, el arsenito y el arseniato, como carcinógenos para los humanos, con amplia evidencia de cáncer de pulmón, vejiga y piel, y asociación positiva con cáncer de riñón, hígado y próstata.

Hay datos poco concluyentes sobre la presencia y la cantidad de exposición postnatal al arsénico a través de la leche materna y menos información sobre su metabolismo en los jóvenes (136). Por lo tanto, un bebé recién nacido puede tener una carga corporal de arsénico si la madre está expuesta a un alto nivel de arsénico, así que será esencial saber qué cantidad de arsénico pasa a través de la leche materna a los niños que amamantan que viven en áreas contaminadas con arsénico.

La vida fetal y las primeras etapas del desarrollo postnatal son períodos de mayor vulnerabilidad a la exposición al arsénico (137). En poblaciones donde las concentraciones de arsénico en el agua potable son altas, la exposición temprana se ha asociado con un aumento de la mortalidad fetal, disminución del peso al nacer y disminución de la función cognitiva. Los niños en estas poblaciones altamente expuestas tienen diferentes tasas de excreción de arsénico y diferentes perfiles metabólicos que los adultos, lo que sugiere que los niños pueden ser más sensibles a la toxicidad del arsénico (138). Se sabe mucho menos sobre las consecuencias de la exposición de bajo nivel, particularmente en la vida temprana. Sin embargo, la exposición en el útero a bajos niveles de arsénico se ha asociado con un aumento de las infecciones infantiles y la gravedad de las infecciones en los lactantes de EE. UU. (137) y con un coeficiente intelectual reducido.

Sin embargo, los recién nacidos tienen una dieta limitada, ingieren leche materna o fórmula casi exclusivamente durante los primeros 4 -6 meses de vida. Estudios recientes sugieren que la fórmula en polvo puede contener bajas concentraciones de arsénico. Esto sugiere que ambos componentes de la fórmula reconstituida, el polvo y el agua con la que se mezcla, pueden ser fuentes de exposición al arsénico para los bebés alimentados con fórmula. Por el contrario, se ha encontrado que la leche materna tiene concentraciones relativamente bajas de arsénico (139), incluso en mujeres con alta exposición a través del agua potable (136). A diferencia de la transferencia de arsénico desde la placenta al feto, el paso a la glándula mamaria es limitado, y se excreta poco arsénico en la leche materna. Por lo tanto, el bebé está protegido contra la exposición al arsénico durante un período exclusivo de lactancia, mientras que la fórmula preparada a partir del agua potable puede provocar una exposición alta.

Se han publicado 18 estudios desde 2000 que midieron los niveles de arsénico en la LM. Los niveles más altos de arsénico se encontraron en un distrito de Bengala Occidental, India (hasta 149 mg/L) (140), una región con niveles de arsénico en agua superiores a 50 mg/L. En esta población, cuando la LM no era suficiente o no estaba disponible, los bebés bebían agua a partir del primer mes de vida, así como leche de vaca o cabra diluida con agua, lo que aumentó la exposición al arsénico desde una edad temprana. Los autores encontraron que los niveles de As en la LM son mucho más bajos que en la orina (media de 438 mg/L), que es una ruta de excreción de As mucho más eficiente que la lactancia. De hecho, Fängström et al. (136) consideraron que la excreción de arsénico a través de la LM era baja y concluyó que la lactancia materna exclusiva protege al bebé de la exposición al arsénico. Carignan et al. (141) llegaron a una conclusión similar en Estados Unidos, un área con bajos niveles de arsénico en el agua (<1 mg/L). Además, se encontraron niveles medios más altos de arsénico en el calostro (3.6–14 mg/L), disminuyendo considerablemente en la leche intermedia y madura (142).

- BARIO

El Ba es un metal alcalinotérreo que está presente de manera ubicua a concentraciones bajas-moderadas en el medio ambiente natural. Este elemento puede ingresar al cuerpo humano a través de la respiración, la ingestión oral o los vectores dérmicos de exposición. Varios factores contribuyen a la necesidad de un mayor estudio de los impactos del Ba en la salud. En primer lugar, se estima que solo en los EE. UU., más de 150.000 personas están expuestas al Ba a niveles superiores al límite de 2 mg/L de la EPA de forma continua.

Aunque no se considera un elemento bioesencial para la nutrición humana, las principales rutas de exposición humana al Ba son el agua (20%) y alimentos (75%) (143). En el organismo, el Ba se acumula en los dientes, el sistema esquelético, el corazón, los riñones, los pulmones y el hígado. Se ha descubierto que el Ba es una causa potencial de enfermedades cardiovasculares, trastornos gastrointestinales y debilidad muscular cuando las personas están expuestas a niveles superiores al estándar de agua potable de la EPA durante períodos relativamente cortos. Las principales fuentes de exposición al Bario en los niños son principalmente la dieta o el contacto dérmico con polvo que contiene Ba, con una exposición menor a través del Ba en el aire. La ingesta diaria promedio de Ba en niños se determinó en el estudio canadiense dietético (1993-1999), que mostró que la ingesta dietética de Ba en niños entre 0 y 48 meses de edad era mayor que en niños mayores (> 4 años) y adultos (144).

Pocos estudios han publicado hasta la fecha sobre las concentraciones de Ba de la leche materna. Los niveles reportados de este elemento en la leche materna están en el rango de 3.61 µg/L (139). Otro estudio investigó las ingestas dietéticas de Ba en bebés de 3 meses de edad que se alimentó con diferentes tipos de leche y se encontró que la ingesta promedio de Ba de la leche materna fue de 4 µg/L. Las razones probables para los niveles más altos de Ba en la leche materna en ese estudio incluyen la dieta materna (consumo de nueces, algas y pescado), agua potable y contacto directo con productos que contienen Ba (145).

Por el contrario, hasta el momento no se han realizado estudios sobre la concentración de Ba en leches artificiales. Únicamente se conocen los datos del contenido de Ba en agua potable, donde la dosis de referencia oral es importante. La estimación reciente y más actualizada de la EPA de EE. UU. coloca la RfD para Ba en 0.2 mg/kg/día para la población adulta en general (146). Estos valores (es decir, 0.2 mg/kg/día) se obtuvieron durante una duración intermedia (15-364 días) de exposición oral a Ba y se calcularon dividiendo el Nivel sin efecto adverso observable de 65 mg/kg/día por un factor de incertidumbre de 100 (10 para tener en cuenta la extrapolación de animal a humano y 10 para la variabilidad humana) y un factor de modificación de 3 (para tener en cuenta las deficiencias en la base de datos de toxicidad oral).

- BERILIO

Los compuestos de Be son muy tóxicos, y se ha observado enfermedad crónica en niños que viven cerca de una fábrica de Be.

Existe una alta probabilidad de que este elemento pueda transmitirse de madre a hijo a través de la leche materna. En estudios previos se ha encontrado una concentración de 0,008 µg/L en la leche materna (61).

- CADMIO

El uso comercial predominante del Cd es en la producción de baterías, colorantes, recubrimientos, estabilizadores plásticos y aleaciones sin hierro. El cadmio en los alimentos puede originarse en suelos contaminados que, a su vez, pueden haber sido contaminados por el agua de riego, o por fertilizantes de fosfato o estiércol. Las concentraciones medias más altas se pueden encontrar en legumbres, cereales y patatas. Las hojas de tabaco acumulan altos niveles de cadmio del suelo, y el humo del cigarrillo es la principal fuente de exposición para los fumadores. Estudios recientes también han demostrado que las joyas y los juguetes pueden ser una fuente de exposición al cadmio (147).

El Cd está clasificado por la IARC como cancerígeno para los humanos, y causa cáncer de pulmón en trabajadores expuestos, con alguna evidencia de cáncer de próstata. El tracto gastrointestinal absorbe del 5 al 10% del cadmio ingerido, pero varios factores pueden afectar la absorción, incluida la deficiencia de vitamina D, calcio o hierro. La absorción de cadmio puede aumentar con la deficiencia de hierro, lo que puede contribuir a una mayor absorción de cadmio por las mujeres. La placenta puede actuar como una barrera parcial a la exposición fetal al cadmio, ya que la concentración en la sangre del cordón umbilical es aproximadamente la mitad de la de la sangre materna; los niveles de cadmio en la LM son del 5 al 10% de los niveles en sangre.

El cadmio absorbido se acumula principalmente en el riñón y el hígado, con una vida media estimada de 6 a 38 años y de 4 a 19 años, respectivamente. El riñón muestra el primer signo de toxicidad por cadmio.

En 2009, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) recomendó una ingesta semanal tolerable de 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal para garantizar un alto nivel de protección para todos los consumidores, incluidos los subgrupos expuestos y vulnerables de la población.

Se han encontrado veintinueve estudios publicados desde 2000 que analizaron Cd en la leche materna, diez realizados en Europa. El cadmio analizado por ICP-MS, presentan rangos de 0.0027- 0.3 $\mu\text{g}/\text{L}$ (139) En la mayoría de los estudios, los niveles medios fueron inferiores a 2 mg/L , con los niveles medios máximos y niveles máximos encontrados en Turquía (4.6 y 43 mg/L) (148). Los niveles de cadmio en la leche materna disminuyen durante el período postparto. Los niveles son mayores entre las mujeres fumadoras, y las amas de casa, probablemente debido a la exposición a partículas de polvo durante actividades de limpieza. Los estudios realizados por Leotsinidis et al. han confirmado una mayor concentración de cadmio en el calostro que en la leche transitoria y madura, y que disminuye con la etapa de lactancia (61).

La frecuencia del consumo de pescado tiene efectos significativos sobre los niveles de cadmio en la leche materna. Kantola y Vartiainen habían observado un mayor nivel de cadmio en las madres que no comían pescado, con una relación positiva con las madres que comían verduras frescas y nueces, cereales e hígado (149). Orun et al. (150) confirmaron que la leche de las madres que no tomaron suplementos de vitaminas y hierro contenía niveles más altos de cadmio que en las madres que tomaron suplementos.

Respecto a las fórmulas infantiles, los estudios publicados refieren que las concentraciones de cadmio, además de variar con el país, suelen ser inferiores a 1 ng/dL para las fórmulas a base de leche y ligeramente superiores a 1 ng/dL para las fórmulas a base de soja (151). Los análisis realizados de LF infantil comercialmente disponibles en Pakistán, en Canadá, y en el Reino Unido (152) encontraron bajas concentraciones de cadmio.

- CESIO

No hay evidencia de que sea un elemento esencial. Se ha informado de ^{137}C en la leche materna después del accidente del reactor de Chernobyl. La propagación de la lluvia radiactiva por Europa tras el accidente de Chernobyl del 26 de abril de 1986 suscitó una gran preocupación entre la población por la posible incorporación de radiactividad a través de la inhalación y el consumo de alimentos contaminados. (153).

Aunque las determinaciones preliminares habían demostrado que los niveles de contaminación en la leche materna eran mínimos (154), hasta noviembre de 1988 se realizaron mediciones de isótopos de cesio en la leche materna en Roma para evaluar la transferencia de ^{137}Cs de la dieta. Con una evaluación de la ingesta de la madre y un modelo simplificado del compartimento de la leche, el factor de transferencia de la dieta a la leche (es decir, la fracción de la ingesta diaria de ^{137}Cs que se transfiere a 1 litro de leche) para las madres romanas se calculó en $0,16 \pm 0,07$ mL (155).

Varios años más tarde, la Comisión Internacional de Protección Radiológica presentó en sus estimaciones de las dosis a los lactantes amamantados resultantes de la ingesta de radionucleidos por parte de sus madres (156). Estas estimaciones se obtuvieron con modelos biocinéticos sistémicos que se habían modificado para dar cuenta de la transferencia a la leche materna.

Se describen concentraciones en la LM que varían entre 1 y 5 $\mu\text{g/L}$ (153).

- GALIO

Se ha descrito la presencia de galio en la leche materna, en un único estudio realizado en Alemania, con muestras de 19 madres lactantes, observándose una concentración media de 0,52 $\mu\text{g/L}$ (59). No se han encontrado otros análisis en la literatura de este elemento en alimentos infantiles.

- MERCURIO

El Hg es un metal muy tóxico que se encuentra naturalmente en el medio ambiente en formas inorgánicas, orgánicas y elementales. El mercurio elemental se utiliza en la producción de cloro gaseoso y en la sosa cáustica para uso industrial, así como en equipos eléctricos, lámparas, termómetros, manómetros, barómetros y amalgamas dentales (157).

El mercurio y el metilmercurio son tóxicos neurológicos para los seres humanos. Además, el metilmercurio también está clasificado como posible carcinógeno humano del grupo C. Los experimentos muestran que la adquisición de Hg en la vida temprana es cuantitativamente más significativa durante el período prenatal que durante la lactancia. Más comúnmente, la exposición materna al Hg ambiental está directamente relacionada con el consumo de pescado o tratamiento dentario con amalgama. La exposición infantil al Hg durante el desarrollo fetal y la lactancia está estrechamente relacionada con la carga materna de Hg. La transferencia de Hg de la madre al feto se

realiza a través de la placenta y se produce a diferentes velocidades, según la fuente de Hg (empastes de amalgama o ingestión de pescado). Estas fuentes de Hg influyen en las concentraciones totales de Hg en la leche materna (158).

Según las recomendaciones de la OMS, el nivel de mercurio de 1,4 a 1,7 $\mu\text{g/L}$ se consideró como "niveles normales" en la leche materna (159). Se describe un aumento de los niveles de mercurio en el plasma de la madre y la leche materna durante la lactancia, y se observan concentraciones que varían entre 0,008 y 3 $\mu\text{g/L}$ (160).

Los niveles de mercurio en la leche materna varían considerablemente según el lugar de residencia de la madre, la etapa de lactancia, la edad y la dieta. Tres factores fuertemente correlacionados (la longitud y el peso corporal del niño al nacer y la prematuridad) se relacionaron significativamente con las concentraciones de Hg: las madres de bebés prematuros mostraron contenidos de Hg en la leche significativamente más altos, lo que podría atribuirse a cambios en el metabolismo de oligoelementos durante embarazo y / o período de lactancia (161).

En la leche madura, se han demostrado asociaciones positivas entre el Hg de la leche materna y el consumo de pescado y entre el Hg de la leche materna y los empastes de amalgama. Sin embargo, en la leche de transición, tales asociaciones no fueron estadísticamente significativas (162).

En cuanto a la leche de fórmula, Drasch et al. encontraron que durante los primeros días después del parto, algunas muestras de calostro tenían valores más altos de mercurio que las muestras de leche de fórmula. Posteriormente, la concentración en la LM fue igual o incluso menor que en la LF (163).

- LITIO

El litio (Li^+) es el tercer elemento de la tabla periódica y es un catión monovalente que comparte ciertas propiedades con el sodio, el potasio y el calcio. A nivel neuronal, el litio reduce la neurotransmisión

excitadora (es decir, de dopamina y glutamato) pero aumenta la neurotransmisión inhibitoria. Puede alterar la señalización intracelular mediante la acción de los sistemas de segundos mensajeros.

El litio se absorbe rápida y completamente después de la ingesta oral. Los niveles máximos ocurren dentro de 1 a 3 h con preparaciones estándar y dentro de 4 a 4,5 h con las formas de liberación lenta y controlada. No se metaboliza ni se une a proteínas. Se elimina casi exclusivamente a través de los riñones, aunque también se pierden pequeñas cantidades en el sudor y las heces, y el 70 a 80% se reabsorbe principalmente en el túbulo proximal del riñón (164).

Las recomendaciones clínicas desalientan el tratamiento de madres lactantes con litio para el trastorno bipolar. Estas recomendaciones cautelosas surgen de la preocupación de que el litio pueda secretarse en niveles altos en la leche materna y los bebés puedan eliminar el litio de manera ineficiente, lo que aumenta el riesgo de exposición y toxicidad significativas a los medicamentos.

Los estudios demuestran una reducción de la concentración a la mitad del suero materno a la leche, y también de la leche al plasma infantil, en las mismas proporciones, sin efectos adversos graves. Los factores que afectan el paso de un fármaco a la leche materna incluyen la vía de administración, la tasa de absorción, la vida media, el tiempo sérico máximo, la constante de disociación, el volumen de distribución, el tamaño molecular, la unión a proteínas, el grado de ionización, el pH y la solubilidad (165).

En los estudios realizados hasta ahora sobre las concentraciones de litio en leche materna se observa una concentración media de 0,005 µg/L (91). En cuanto a la leche de fórmula infantil, no se ha encontrado evidencia en la literatura de niveles recomendados para este elemento.

- NIQUEL:

El níquel es un agente tóxico bien conocido para varios sistemas en humanos. Se define como un agente hematotóxico, inmunotóxico, neurotóxico, nefrotóxico, hepatotóxico y cancerígeno y también es tóxico para los sistemas reproductivo y pulmonar. Los datos de estudios en humanos indican que los síntomas de exposición aguda al níquel consisten en trastornos gastrointestinales (náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea), alteraciones visuales, dolor de cabeza, vértigo y tos. Además, la inhalación crónica de níquel y sus compuestos está asociada con un alto riesgo de cáncer de pulmón y enfermedades cardiovasculares, cutáneas y renales (166).

A pesar de su alto perfil de toxicidad y altos niveles de ingesta dietética de varios tipos de alimentos y agua en algunos países, no se han establecido los requisitos nutricionales, la deficiencia o las cantidades dietéticas recomendadas de níquel. Debido a su alta regulación homeostática, los síntomas del envenenamiento por Ni están simplemente relacionados con la irritación gastrointestinal (84).

Los estudios sobre las concentraciones de níquel en la leche materna fueron limitados. Los niveles notificados de este metal en la leche materna, en estudios previos oscilaron entre 0,79 y 20 ng/L (167). Además, se describe una disminución de la concentración de níquel durante la lactancia.

- PLOMO

Los niveles de Pb en sangre en la población mundial han ido disminuyendo significativamente desde la década de 1970, en gran parte debido a la reducción de fuentes de contaminación ambiental, principalmente la eliminación virtual de este elemento de los combustibles de automóviles, pero también de otras fuentes de exposición como pinturas, plomería, cerámica, cosmética, soldadura de latas de alimentos, etc. En los niños estadounidenses pequeños, se informa que los niveles de plomo por encima de 100 µg/L estarán relacionados principalmente con la exposición a material de las

pinturas utilizadas en los hogares. Es bien conocida la relación entre los niveles elevados de la plumbemia en los niños y la aparición de déficits en el desarrollo intelectual (168).

Aunque la dieta es la principal fuente de exposición materna, una porción significativa de Pb se adquiere del aire. Después de la absorción, el Pb es fijado preferentemente en los huesos con una vida media de años; Estos procesos están modulados por la nutrición materna y el estado óseo, el contenido dietético de Pb y las sustancias osteoactivas acompañantes (160).

El consumo de alimentos ricos en Ca por parte de la madre reduce el riesgo de un aumento de las concentraciones de plomo en la leche materna ($> 100 \mu\text{g/L}$). El Fe también interfiere con la absorción y toxicidad del Pb en los niños, provocando una reducción de la absorción del plomo; Los efectos hematológicos y el déficit intelectual provocados por el plomo son contrarrestados por una dieta rica en hierro (169).

En los estudios realizados hasta el momento en leche materna se objetivaron concentraciones de plomo que varían entre 0,019 y 18,17 $\mu\text{g/L}$ (170 - 172).

Los estudios realizados en diferentes países han demostrado que las concentraciones de Pb en la LM pueden aumentar por el tabaquismo, la contaminación urbana (que incluye vivir cerca de fundiciones de metales) y por actividades industriales relacionadas con el Pb. (160).

En cuanto a la LF infantil, estudios previos han demostrado que las concentraciones típicas de Pb en todos los tipos de preparados para lactantes son del orden de 1 a 10 ng/g-1 (173), aunque niveles tan altos como 450 ng/g-1 (174) has sido descritos.

- PLATINO

La acumulación de elementos del grupo del platino en el medio ambiente se ha incrementado con el tiempo. El contenido de Pt de los polvos de las carreteras puede ser soluble, por lo que entra en las

aguas, los sedimentos, el suelo y, finalmente, la cadena alimentaria. El efecto de la exposición ocupacional crónica a los compuestos de Pt está bien documentado y se sabe que ciertas especies de Pt exhiben un potencial alergénico. Los PGE también se han asociado con asma, náuseas, aumento de la caída del cabello, aumento de los abortos espontáneos, dermatitis y otros problemas de salud graves en los seres humanos.

Se describen niveles indetectables de platino en la leche materna, en los estudios realizados hasta el momento. Las concentraciones de Pt en la leche materna son extremadamente bajas, oscilando entre $<0,01$ y $0,04 \mu\text{g/L}$, con casi todos los resultados por debajo del límite de detección del método.

Todas las concentraciones de Pt en las fórmulas infantiles investigadas estaban por debajo del límite de detección del método de $0,03 \mu\text{g/L}$ (175).

- RUBIDIO

El rubidio es un elemento relativamente abundante en los fluidos y tejidos corporales, y también está presente en la leche materna, con un comportamiento similar al del potasio, aunque no se conocen funciones bioquímicas dependientes del rubidio. El rubidio muy alto asociado con un bajo nivel de potasio puede poner los músculos en un estado de semiparálisis. La mejor función de absorción tiene lugar en el yeyuno del intestino delgado (176).

Se han descrito concentraciones de rubidio en la leche materna que oscilan entre $0,3$ y $1,2 \mu\text{g/dL}$ (177). Las concentraciones medias de Rb fueron diferentes según el estado de lactancia. Fujisawa et al informaron que la concentración de Rb en la leche materna de madres de recién nacidos con bajo peso al nacer no difiere del estándar de la literatura ($55,9 \pm 14,1 \mu\text{g/dl}$ por ICP-Ms) (178), aunque Alimonti et al encontraron concentraciones más altas de Rb a término recién nacidos por el mismo método en comparación con los recién nacidos prematuros (179).

No hay estudios previos en fórmulas infantiles acerca de los niveles de rubidio en estos alimentos.

- ANTIMONIO

La concentración descrita en estudios previos en la LM es de entre 0,14 y 0,35 $\mu\text{g/L}$ (86).

- ESTAÑO

No hay pruebas de que el estaño sea un elemento esencial. Los signos de exposición crónica al estaño inorgánico incluyen disminución del crecimiento y anemia. Además, se estudiaron los compuestos orgánicos de estaño y no se pudo observar un transporte significativo de la dieta de la madre a la leche (180).

En los estudios realizados previamente se describen niveles indetectables en LM (86).

- ESTRONCIO

No hay evidencia de la importancia nutricional de este elemento, aunque se sabe que se concentra en la masa ósea.

En estudios previos realizados en muestras de LM se describen concentraciones que varían entre 44 y 46 $\mu\text{g/L}$ (181).

- TITANIO

El Ti es un elemento metálico no esencial con el número atómico 22. Es el noveno elemento más abundante en la corteza terrestre y el séptimo metal más abundante en general. El óxido más importante es el dióxido de Ti (182).

Las nanopartículas de dióxido de titanio se fabrican en todo el mundo en grandes cantidades para su uso en una amplia gama de aplicaciones. La mayor parte de la literatura se ha centrado en el sistema respiratorio, lo que demuestra la importancia de la inhalación

como la ruta principal para la exposición al NP de TiO₂. Los NP de TiO₂ pueden trasladarse a órganos sistémicos desde el pulmón y el tracto gastrointestinal, aunque la tasa de translocación parece baja. También se han realizado estudios que se centran en otras posibles vías de exposición humana. La exposición oral se produce principalmente a través de productos alimenticios que contienen aditivos NP de TiO₂. La mayoría de los estudios de exposición dérmica, ya sea in vivo o in vitro, informan que las NP de TiO₂ no penetran en el estrato córneo. En el campo de la nanomedicina, la inyección intravenosa puede administrar portadores de nanopartículas de TiO₂ directamente en el cuerpo humano. Tras la exposición intravenosa, las NP de TiO₂ pueden inducir lesiones patológicas del hígado, el bazo, los riñones y el cerebro. También se ha demostrado que la mayoría de estos efectos pueden deberse al uso de dosis muy altas de NP de TiO₂ (183).

La concentración descrita en estudios previos en la leche materna es de entre 6,3 y 270 µg / L. Y todas las fórmulas infantiles estudiadas tenían concentraciones de Ti por debajo del límite de detección del método de 13 µg / L (175).

- TALIO

El talio es un metal altamente tóxico que también se encuentra naturalmente en el medio ambiente y, por lo tanto, puede contaminar el agua y los alimentos. Hasta ahora, no se ha derivado una ingesta diaria (o semanal) tolerable. No tiene un uso biológico conocido y no parece ser un elemento esencial para la vida. Ha sido considerado uno de los metales pesados más tóxicos. La toxicidad del talio no se ha estudiado ampliamente en todo organismo vivo porque ya ha sido establecido que este metal es extremadamente tóxico. La exposición humana puede tomar diferentes vías: oral, por ingestión de alimentos contaminados, dérmica o respiratoria, por inhalación de polvo y humos. Una vez que ingresa al cuerpo, la gravedad de la intoxicación dependerá de la cantidad de talio absorbido, la reacción inmunitaria y la tolerancia individual al veneno. La absorción de talio por la mucosa es casi completa (80% a 100%) y muy rápida. Después de la

absorción, el talio se distribuye de la sangre a los tejidos. En los humanos, los riñones presentan las concentraciones más altas, seguidos por los huesos, el estómago, los intestinos, el bazo, el hígado, los músculos, los pulmones y el cerebro. Está bien documentado que el talio atraviesa la barrera placentaria y se excreta en la leche materna. La característica más destacada de la intoxicación por talio es la pérdida de cabello o alopecia. Otros síntomas, como trastornos gastrointestinales, presión arterial alta, taquicardia y debilidad persistente, no son específicos del talio solo (184)

No hay ningún estudio realizado hasta el momento que valore la concentración de talio en leche materna o productos infantiles.

- URANIO

El U es un metal pesado radioactivo y tóxico, que se encuentra en todas partes del medio ambiente. El uranio natural consta de tres isótopos principales: ^{234}U , ^{235}U y ^{238}U . Como resultado de su presencia natural, este metal se encuentra en cantidades variables pero pequeñas en rocas, aguas, suelos y aire. Las fuentes ambientales importantes de U se derivan también de actividades antropogénicas. Así, el uso generalizado de la energía nuclear, las armas con uranio empobrecido, la combustión de carbón, así como la producción y aplicación de fertilizantes fosfóricos son, entre otras, importantes actividades antropogénicas fuentes de U que afectan al medio ambiente (185).

Los principales efectos adversos para la salud derivados de la exposición a este metal suelen deberse a su importante toxicidad química. La toxicidad por uranio incluye el sistema nefrológico, neurológico y reproductivo. Además, la exposición al U también puede aumentar los riesgos de cáncer debido a su radiactividad (186).

El único estudio que se ha realizado hasta el momento sobre las concentraciones de uranio en leche materna observa un valor medio de $0.03 \mu\text{g} / \text{L}$ (59).

En cambio, no hay ningún estudio previo sobre este metal en las fórmulas infantiles.

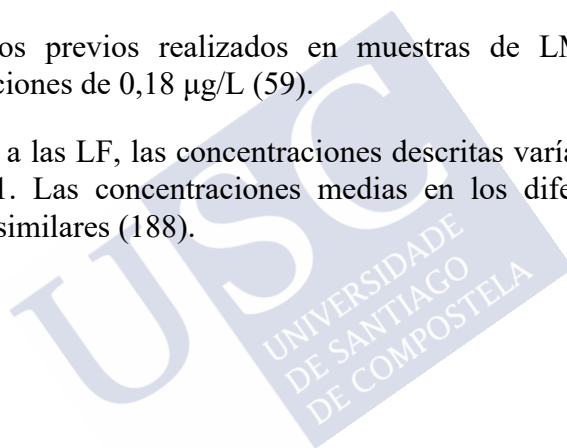
- VANADIO

El vanadio es un metal de transición que se distribuye ampliamente en el suelo, el agua y la atmósfera. Como materia prima importante, el vanadio se utiliza ampliamente en la industria moderna para producir acero y para fabricar automóviles, astilleros, y fertilizantes. (187).

No se ha identificado una función bioquímica definida para el vanadio. El vanadio es un elemento relativamente tóxico, siendo los síntomas más frecuentes las alteraciones intestinales y la lengua verdosa (84).

En estudios previos realizados en muestras de LM se describen concentraciones de 0,18 $\mu\text{g/L}$ (59).

En cuanto a las LF, las concentraciones descritas varían entre 0,001 y 0,6 $\mu\text{g/g-1}$. Las concentraciones medias en los diferentes tipos de leche son similares (188).





2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

2.1 JUSTIFICACIÓN

La LM es considerada el alimento ideal para la nutrición infantil, ya que contiene todos los macro y micronutrientes que un niño necesita para un crecimiento saludable. En el caso de los niños prematuros es particularmente importante proporcionar suficientes nutrientes para apoyar la tasa de crecimiento extrauterino y un desarrollo neurológico adecuado. Por lo tanto, es importante cuantificar con precisión los componentes de nutrientes que se dan a los bebés prematuros.

La alternativa en todos los RN que no pueden recibir LM, propia o donada, son las LF infantiles, producidas a partir de leche de vaca a nivel industrial. La composición de las fórmulas infantiles se adapta constantemente con el fin de proporcionar una nutrición similar a la de la LM.

Los oligoelementos que contienen las leches infantiles son esenciales para el crecimiento y desarrollo del niño, ya que los déficits de micronutrientes durante la vida temprana afectan negativamente a la salud individual y comunitaria, asociándose tanto con repercusiones a corto plazo como a largo plazo. Y por otra parte cantidades excesivas de estos elementos también pueden ser perjudiciales. Además de los elementos esenciales, la leche también puede transferir metales potencialmente tóxicos, aunque las concentraciones pueden variar ampliamente dependiendo de las exposiciones ambientales

En los últimos años se han publicado estudios con mediciones de la concentración de oligoelementos y metales tóxicos en la LM de mujeres de diferentes países. Sin embargo, no hay ningún estudio amplio de los

niveles de todos los oligoelementos, comparando LM con fórmulas de inicio. Por lo tanto, consideramos de interés científico y clínico el determinar los niveles de minerales, oligoelementos y tóxicos tanto en LM en sus diferentes etapas, como en LF que se emplean para la alimentación de los RN en el primer año de vida, y que nos permitan evaluar con mayor profundidad la nutrición de nuestros neonatos y lactantes y valorar la repercusión que ello pueda tener.

2.2 OBJETIVOS:

- **Objetivo principal**
 - Determinar los niveles de minerales y oligoelementos, tanto en LM en sus diferentes etapas como en las LF que se emplean para la alimentación de los recién nacidos, tanto a término como prematuros, en el primer año de vida. Será un amplio estudio de los niveles de minerales y oligoelementos esenciales y tóxicos, incluidos el Talio no estudiado hasta ahora en la literatura en la LM así como el Galio, el Litio, el Talio y el Uranio en las LF.
- **Objetivos secundarios**
 - Relacionar los niveles de minerales y oligoelementos con el contexto medioambiental de nuestra población a través de una encuesta realizadas a las madres participantes en el estudio, y valorar su posible influencia en los valores encontrados en nuestra población.
 - Comparar los niveles de minerales y oligoelementos en LM encontrados en nuestra población y en LF, con los valores de normalidad establecidos por las Sociedades de Nutrición ESPGHAN y de la AAP.
 - Determinar si los niveles analizados en la LF son coincidentes con los datos proporcionados por la industria.

3. MATERIAL Y MÉTODOS:

La presente tesis ha sido parcialmente publicada en *Nutrients*. 2021; 13:1885.

<https://doi.org/10.3390/nu13061885>

Yo, como autora del artículo, he recopilado los datos del estudio y he redactado el manuscrito, además de participar en su revisión.

Factor de impacto: 5.717

Categoría y cuartil: Food Science (Q1) (30/214); Nutrition and Dietetics (Q1) (17/89)

<https://www.mdpi.com/1132044>

3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional, que analiza la composición de micronutrientes en la alimentación que reciben los neonatos y lactantes del área sanitaria de Santiago de Compostela, con 2 subgrupos:

- a) Estudio prospectivo en leche de madres de recién nacidos a término y prematuros.

En madres de recién nacidos a término en 3 diferentes periodos evolutivos durante los 6 primeros meses después del nacimiento: calostro (primeros 3-4 días de lactancia), leche intermedia (hasta los 7-10 días) y leche madura.

En madres de recién nacidos prematuros se analizó de la leche madura (>11 días y < 6 meses).

- b) Estudio transversal de leches de fórmula adaptada y especiales que reciben los neonatos y lactantes en el primer año de vida.

El período de estudio para la recolección de los datos fue del 1 de enero de 2018 al 30 de junio de 2019.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación de Galicia (2017/082) y todas las muestras han sido usadas solo para este estudio.

3.1.1 Población

- *Criterios de inclusión:*
 - Madres lactantes de recién nacidos a término del área de Santiago de Compostela, que han dado a luz en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y que están en el área de Maternidad o fueron dadas de alta.
 - Madres de neonatos pretérmino ingresados en el Servicio de Neonatología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela o que han sido dados de alta.
 - Madres de RN a término o prematuros que donan leche materna al Banco de Leche Humana Donada de Santiago de Compostela.
- *Criterios de exclusión:*
 - No haber firmado el consentimiento informado o no cumplir los requisitos establecidos para realizar lactancia materna propia.

3.2. VARIABLES DE ESTUDIO

Se analizaron los factores médicos, sociales, del medio ambiente y demográficos que puedan influir en la lactancia. Se recogieron así datos relativos a:

- En la madre: edad, peso, ganancia excesiva de peso durante el embarazo, fármacos administrados durante el embarazo y datos de consumo de alcohol, tabaco y drogas. Se tomaron muestras de LM de calostro (TC), leche intermedia (TI) y madura (TM) en las madres de RN a término y de leche madura en las de RN pretérmino (PM).
- En el recién nacido: género, edad gestacional y peso al nacimiento, edad a la toma de muestra de leche materna.

Con respecto a las LF se analizaron leches de inicio (FI) (6 primeros meses), leches de continuación (FC) (6 meses-1 año), y leches elementales (FH) (proteína digerida) de las casas comerciales Nestlé, Ordesa, Lactalis, Alter, Mead Johnson y Nutricia. Se incluyeron además fórmulas especiales para prematuros (FP) de las casas comerciales Ordesa y Nestlé disponibles en el mercado actualmente (Blemil prematuros y Alprem).

En cada muestra tanto de leche materna como de fórmula se analizaron los niveles de oligoelementos divididos en 3 grupos:

- a) Minerales (5), que incluyen Ca, K, Mg, Na y P
- b) Oligoelementos esenciales (9), que son Co, Cr, Cu, Fe, I, Mn, Mo, Se y Zn
- c) Oligoelementos tóxicos (21): Ag, Al, As, Ba, Be, Cd, Cs, Ga, Hg, Li, Ni, Pb, Pt, Rb, Sb, Sn, Sr, Ti, Tl, U y V.

A los oligoelementos no esenciales los hemos denominado a los efectos prácticos de este trabajo como oligoelementos tóxicos. En las concentraciones más habituales en la naturaleza, algunos de estos

elementos pueden no ser tóxicos, pero podrían llegar a serlo de forma aguda o crónica, al aumentar su cantidad y ocasionar trastornos nocivos en el estado de salud. Este incremento de concentraciones puede ser motivado por causas naturales, por incorporación a través de los procesos industriales de fabricación de las leches artificiales o de fórmula, o por contaminación de los nutrientes. Las diferencias de concentraciones de estos oligoelementos tóxicos en un hábitat restringido o en un hábitat forzado (caso de la alimentación artificial con un mismo tipo de fórmula) podrían ocasionar a corto o largo plazo alteraciones bioquímicas que desconocemos.

Los resultados de las concentraciones de los minerales y oligoelementos en leche materna se representan en diagramas de caja para mostrar las distribuciones de las concentraciones en las 3 etapas de la LM a término y la LM pretérmino. Los diagramas de caja contienen el 50% de todos los valores (percentil 25 a percentil 75) con los valores de la mediana indicados como una línea horizontal gruesa. Los bigotes representan los valores más altos y más bajos, y los puntos los valores extremos.

La variabilidad en las concentraciones consideradas normales por la AAP y ESPGHAN fueron las utilizadas de referencia, que se muestran en la Tabla 4 (58, 104). Para las recomendaciones de las leches de fórmula de la ESPGHAN se ha hecho una conversión de las unidades de mg/100kcal y $\mu\text{g}/100 \text{ kcal}$ a mg/L y $\mu\text{g}/\text{L}$ respectivamente para poder comparar con los valores encontrados en nuestro estudio, teniendo en cuenta que las leches de fórmula deben tener entre 60 y 70 kcal cada 100 ml (utilizamos como valor medio 65 kcal/100ml).

Tabla 4. Variabilidad en la composición de minerales y oligoelementos en leche materna y leche de fórmula.

Elementos	LM madura según AAP	LF según ESPGHAN
Ca (mg/L)	200-300	325- 910
K (mg/L)	400-550	390- 1040
Mg (mg/L)	35-110	35- 100
Na (mg/L)	60-100	130- 390
P (mg/L)	120-140	160- 585
Co (µg/L)	0-0,14	-
Cr (µg/L)	0,6 - 0,8	-
Cu (µg/L)	200-400	225 -520
Fe (µg/L)	50- 900	2000-8500
I (µg/L)	40-250	65-325
Mn (µg/L)	1- 3	6-325
Mo (µg/L)	0,2-0,7	-
Se (µg/L)	10-30	6- 60
Zn (µg/L)	1000- 3000	3250 - 9750
Ag (µg/L)	0-0,7	-
Al (µg/L)	10-50	-
As (µg/L)	0-6	-
Ba (µg/L)	0-20	-
Be (µg/L)	0-0,10	-
Cd (µg/L)	0 - 1	-
Cs (µg/L)	0-5	-
Ga (µg/L)	0 - 5	-
Hg (µg/L)	0-0,5	-
Li (µg/L)	-	-
Ni (µg/L)	0-10	-
Pb (µg/L)	0-2	-
Pt (µg/L)	0 - 0,10	-
Rb (µg/L)	300-1000	-
Sb (µg/L)	0-0,10	-
Sn (µg/L)	0-0,10	-
Sr (µg/L)	30 -50	-
Ti (µg/L)	10-50	-
Tl (µg/L)	-	-
U (µg/L)	0-0,03	-
V (µg/L)	0 - 0,10	-

AAP: Academia Americana de Pediatría; Ag: plata; Al: aluminio; As: arsénico; Ba: bario; Be: berilio; Ca: calcio; Cd: cadmio; Co: cobalto; Cs: cesio; Cr: cromo; Cu: cobre; ESPGHAN: Sociedad Europea de Hepatología y Nutrición de Gastroenterología Pediátrica; Fe: hierro; Ga: galio; Hg: mercurio; I: yodo; K: potasio; LF: Leche de fórmula; Li: litio; LM: Leche materna; Mg: magnesio; Mn: manganeso; Mo: molibdeno; Na: sodio; Ni: níquel; P: fósforo; Pb: plomo; Pt: platino; Rb: rubidio; Sb: antimonio; Se: selenio; Sn: estaño; Sr: estroncio; Ti: titanio; Tl: talio; U: uranio; V: vanadio; Zn: zinc.

3.3 TAMAÑO MUESTRAL

Previo cálculo de éste (ver estudio estadístico) se han recogido 70 muestras de calostro, 70 muestras de leche intermedia, 70 muestras de leche madura de madres con RN a término y 100 muestras de leche madura de madres con parto prematuro. De las fórmulas infantiles, se han recogido 30 muestras de leches de fórmula disponibles en el mercado español.

3.4 MÉTODO:

3.4.1 Recogida y preparación de muestras previo al análisis

A las madres que participaron en el estudio se les informó y se les facilitó hojas de información y de consentimiento informado. Posteriormente se les solicitó una muestra de 5-10 ml de su leche materna para cada periodo de la lactancia, en 3 períodos en las madres de RN a término.

Las muestras de LM se extrajeron manualmente en recipientes de plástico estériles tratados con polietileno tereftalato (PET). El área del pezón de la mama se lavó previamente con agua y jabón. Los recipientes fueron etiquetados con el día de la toma de muestra y todas las muestras fueron almacenadas en un congelador (-20°C) hasta el análisis.

Las muestras de LF infantiles fueron proporcionadas por el Servicio de Neonatología. De cada una de ellas se ha recogido 30 g de leche en polvo bajo campana de flujo laminar (Faster Modelo Bio48) para almacenamiento en envases PET tratados. Posteriormente se reconstituyeron con agua ultrapura según lo sugerido por el fabricante, previo al análisis.

3.4.2 Procedimiento analítico

Las muestras de LM y LF se analizaron en el Laboratorio de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela, dirigido por la Dra. Pilar Bermejo. Para el análisis se optó por la introducción directa de las muestras en los equipos de

espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), modelo NexION® 300X (PerkinElmer Inc., Shelton, CT); y de espectrometría de masas por espectrofotómetro de emisión óptico (ICP-OES), modelo Optima 3300DV (PerkinElmer Inc., Norwalk, USA), reduciendo al mínimo el pretratamiento de la muestra.

En el caso de las muestras de LM se ha seguido el procedimiento propuesto por Mohd-Taufek et al. (189). Para ello se prepara una disolución que contiene 0,01 % (m/V) Tritón X-100, 10 g/L Ácido Etilendiaminotetraacético, 2,5% (v/v) amoníaco y 10 % (v/v) 2-propanol preparada en agua ultrapura Mili-Q®.

Una vez homogenizadas las muestras de LM calentándolas en un baño de ultrasonidos entre 35-38°C, se toman 400 µL de leche, se añade 1 mL de la disolución alcalina preparada previamente y se lleva a un volumen final de 10 mL con H₂O Mili-Q®.

La preparación de las muestras de LF infantil se ha realizado simplificando el proceso, ya que el contenido en grasa de la LF es menor que en la LM y además está hidrolizada, dando como resultado una matriz mucho más simple. Se pesa la cantidad de muestra necesaria para obtener la misma proporción recomendada por el fabricante de la fórmula infantil. Una vez disueltas y homogenizadas las muestras se toman 400 µL de leche y se añaden 1 mL de la disolución de 0,01 % (v/v) Tritón X-100 y H₂O Mili-Q® hasta un volumen final de 10 mL.

Se han empleado como materiales de referencia certificado el NIST SRM 1849 para las muestras de fórmula infantil y los materiales de referencia certificado de leche ERM-BD 150 para niveles bajos de concentración y el ERM-BD 151 para niveles superiores en algunos elementos. Una vez disueltos con agua ultrapura estos materiales han sido preparados igual que las muestras.

Se ha utilizado el método de adición estándar para la cuantificación de las concentraciones empleando diferentes niveles de concentración entre 0 a 25 µg/L. En la Tabla 5 se muestran las condiciones instrumentales del ICP-MS

Tabla 5. Condiciones instrumentales del equipo de espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)

Componente/Parámetro	Tipo/Valor/Modo
Nebulizador	Meihard
Cámara Cyclónica	Quartz cyclonic
Interfase	Triple cono de níquel
Caudal de gas de plasma	16,0 L/min
Caudal de gas auxiliar	1,2 L/min
Caudal de nebulización	0,90 L/min
Velocidad de toma de muestra	400 µL/min
Potencia de radiofrecuencia	1600 W
Tiempo de integración	500 ms
Réplicas por muestra	3
Modo de trabajo	KED (Kinetic Energy Discrimination) 1 ó 4 mL/min He
Isótopos	⁷ Li, ⁹ Be, ⁵⁵ Mn, ⁶³ Cu, ⁷¹ Ga, ⁸⁵ Rb, ⁸⁸ Sr, ⁹⁸ Mo, ¹⁰⁷ Ag, ¹¹¹ Cd, ¹³³ Cs, ¹³⁸ Ba, ¹⁹⁵ Pt, ²⁰² Hg, ²⁰⁵ Tl, ²⁰⁸ Pb, ²³⁸ U ²⁷ Al, ⁴⁷ Ti, ⁵¹ V, ⁵³ Cr, ⁵⁷ Fe, ⁵⁹ Co, ⁶⁰ Ni, ⁶⁶ Zn, ⁷⁵ As, ⁷⁸ Se, ¹¹⁸ Sn, ¹²¹ Sb, ¹²⁷ I
Patrones internos	5 µg/L ⁷⁴ Ge, ⁸⁹ Y, ¹⁰³ Rh, ¹³⁰ Te en MilliQ®

Ag: plata; Al: aluminio; As: arsénico; Ba: bario; Be: berilio; Cd: cadmio; Co: cobalto; Cs: cesio; Cr: cromo; Cu: cobre; Fe: hierro; Ga: galio; Hg: mercurio; I: yodo; Li: litio; Mn: manganeso; Mo: molibdeno; Ni: níquel; Pb: plomo; Pt: platino; Rb: rubidio; Sb: antimonio; Se: selenio; Sn: estaño; Sr: estroncio; Ti: titanio; Tl: talio; U: uranio; V: vanadio; Zn: zinc.

En el caso de los elementos mayoritarios se ha empleado el equipo de ICP-OES modelo Optima 3300DV (PerkinElmer Inc., Norwalk, USA). La calibración del equipo se ha realizado mediante el método de adición estándar con patrones de concentración entre 0 y 5 mg/L para Ca, K, Mg y entre 0-25 mg/L para Na y P. Las condiciones instrumentales del ICP-OES se detallan en la siguiente tabla 6.

Tabla 6. Condiciones instrumentales del equipo de espectrometría de masas por espectrofotómetro de emisión óptico (ICP-OES)

Componente/Parámetro	Tipo/Valor/Modo
Potencia de radiofrecuencia	1300 W
Nebulizador	GemTip Flow Cross
Caudal de gas de plasma	16,0 L/min
Caudal de gas auxiliar	0,5 L/min
Caudal de nebulización	0,80 L/min
Velocidad de toma de muestra	1,5 mL/min
Tiempo de integración	5 s
Réplicas por muestra	5
Modo de trabajo	Axial excepto Na en radial
Longitudes de onda	Ca 317,93 nm
	K 766,48 nm
	Mg 285,21 nm
	Na 589,584 nm
	P 213,62 nm

Ca: Calcio; K: Potasio; Mg: Magnesio; Na: Sodio; P: Fósforo.

- Reactivos utilizados:
 - Ácido Etilendiaminotetraácetico 99,995% trace metals basis (Aldrich, USA).
 - Amoníaco en solución 25% Suprapur (Merck, Alemania).
 - 2-Propanol al 99,999% (Aldrich, USA).
 - Tritón X-100 (Sigma, España).
 - Ioduro Potásico sólido (Merck, Alemania).
 - Multi-Elemental Calibration Standart 3 (Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn), 1000 mg/L (Perkin, USA)
 - Disolución patrón de Mo 1000 mg/l Certipur (Merck, Alemania)
 - Disolución patrón de Sb 1000 mg/l Certipur (Merck, Alemania)

- Disolución patrón de Sn 1000 mg/l Pure Plus (Perkin Elmer, USA)
- Disolución patrón de Pt 1000 mg/l (Panreac, España)
- Disolución patrón de Ti 1000 mg/l Pure Plus (Perkin Elmer, USA)
- Disolución patrón de Hg 10 mg/L (Perkin Elmer, USA)
- Disolución patrón de Ge 10 mg/L Pure Plus (Perkin Elmer, USA)
- Disolución patrón de Rh 1000 mg/L Pure Plus (Perkin Elmer, USA)
- Disolución patrón de Te 1000 mg/L Certipur (Merck, Alemania)
- Disolución patrón de Y 1000 mg/L (Panreac, España)
- Disolución patrón de Na, K, Ca, Mg de 5000 mg/L (Perkin Elmer, USA)
- Disolución patrón de P 1000 mg/L (Scharlau, España)
- Material de referencia certificado NIST 1849 (Gaithersburg, USA)
- Material de referencia certificado ERM-BD150 y ERM-BD150 Skimmed Milk Powder (Institute for Reference Materials and Measurement, Bélgica)
- Agua Ultrapura Mili-Q®, resistividad 18 Ω cm

3.4.3 Metodología de las variables maternas y neonatales estudiadas

Se utilizó un cuaderno de recogida de datos para registrar la información sobre la encuesta realizada a las madres que participan en el estudio.

- EDAD MATERNA (EM):

Se considera como EM, aquella edad que tiene la participante del estudio en el momento del parto.

- LUGAR DE RESIDENCIA EN LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS:

Se ha registrado el lugar de residencia de la participante del estudio en el momento del embarazo, además de los lugares de residencia en los últimos 10 años si no fuera el mismo, clasificándolos en dos tipos:

- Urbano: Definido por aquellas poblaciones con más de 10000 habitantes.
- Rural: Definido por aquellas poblaciones con menos de 10000 habitantes.

- CONSUMO DE AGUA:

Se ha registrado cual es el origen del agua consumida durante el embarazo por las participantes del estudio, clasificándolo en dos tipos:

- Consumo de agua de pozo: Si o no.
- Consumo de agua traída o agua envasada: Si o no.

- ANTECEDENTES PERSONALES:

Se ha determinado la existencia o no de antecedentes personales de interés previos al embarazo, en las madres participantes en el estudio.

- Clasificación de los antecedentes personales: malformaciones congénitas, enfermedades hematológicas, enfermedades neurológicas, patologías respiratorias, patologías del tracto digestivo, patologías renales, y patologías endocrinológicas.

- PESO PREVIO AL EMBARAZO Y GANANCIA PONDERAL:

Se ha registrado el peso de la madre participante previo al embarazo, y se ha calculado la diferencia con el peso al final del embarazo para conocer la ganancia ponderal durante el mismo, medido en kilogramos (kg).

- Ganancia adecuada de peso durante el embarazo: Entre 0 y 15 kg.
- Ganancia excesiva de peso durante el embarazo: ≥ 16 kg. (190)

- GESTACION:

Se ha registrado el número de gestación del embarazo con el que participó en el estudio, y si esta gestación ha sido múltiple o no. Además, se ha determinado la existencia de patologías propias del embarazo:

- Diabetes gestacional: Se define como disminución de la tolerancia a los hidratos de carbono que se diagnostica por primera vez durante la gestación, independientemente de la necesidad de tratamiento insulínico, grado del trastorno metabólico o su persistencia una vez finalizado el embarazo. El diagnóstico se realiza mediante el Test de O'Sullivan, que es una determinación de la glucemia en plasma venoso una hora después de la administración por vía oral de 50 g de glucosa, siendo el resultado patológico glucosa ≥ 140 mg/dl.
- Hipertensión gestacional: Se define como tensión arterial alta que ocurre durante el embarazo, sin haber padecido previamente de problemas de hipertensión. El diagnóstico de hipertensión en el embarazo se realiza cuando en dos o más tomas separadas por 6 horas y estando en reposo, la paciente presenta una TA sistólica ≥ 140 mmHg y/o una TA diastólica ≥ 90 mmHg.

- TRATAMIENTOS y TÓXICOS DURANTE EL EMBARAZO

Se ha registrado la ingesta de cualquier tipo de fármaco durante el embarazo, en particular:

- Hierro.
- Ácido fólico y yodo.
- Antibióticos.
- Antiagregantes y anticoagulantes.
- Progesterona.
- Beta-bloqueantes.
- Insulina.
- Levotiroxina.

Además, se ha determinado el consumo de tabaco durante la gestación:

- Tabaco: Si o no.

- TIPO DE PARTO

Se ha registrado el tipo de parto de las madres participantes en el estudio:

- Parto vaginal eutócico
- Parto instrumentalizado con ventosa o fórceps
- Cesárea

- EDAD GESTACIONAL

En función de la edad gestacional de las madres participantes en el estudio, en el momento del nacimiento y siguiendo la clasificación recomendada por American College of Obstetricians and

Gynecologists and the Society for Maternal-Fetal Medicine, se han establecido 2 grupos:

- Prematuro: hasta 36 semanas y 6 días.
- Término: 37 semanas y 0 días a 41 semanas y 6 días.

- PESO AL NACIMIENTO

Siguiendo las Gráficas de Carrascosa para niños a término (191) y de Fenton para niños prematuros (192) se han establecido 3 grupos de pacientes en función de la edad gestacional y de su peso al nacimiento:

- Bajo peso al nacimiento: inferior al percentil 3.
- Peso normal al nacimiento: entre el percentil 3 y el percentil 97.
- Peso elevado al nacimiento: superior al percentil 97.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El tamaño muestral mínimo necesario para encontrar diferencias de al menos un 50% entre las medias de dos variables cuantitativas normales, con una significación del 5% y una potencia del 80%, es de 63 muestras para cada grupo (calostro, leche materna inmadura, leche materna madura). Considerando una pérdida o problemas en el análisis del 10%, se consideró óptimo el tamaño de 70 en cada grupo.

Los datos obtenidos se recogieron y analizaron utilizando la hoja de cálculo Microsoft Excel 2010 y el programa estadístico SPSS.

Las variables categóricas se presentan como número y porcentaje, mientras que las variables continuas se presentarán como media y desviación estándar. La normalidad de las variables se analizó mediante el test de Shapiro-Wilk.

Se procedió a realizar la comparación de las variables medidas entre los grupos, así como todas aquellas variables de interés. En el caso de que las variables numéricas se utilizó el test de ANOVA para comparar los grupos, con test de Bonferroni para contrastes múltiples. Con las variables categóricas, se utilizó el test X^2 . La relación entre el cambio medio de los elementos y las variables se evaluó con modelos de regresión lineal expresando el cambio como un coeficiente.

Para todos los análisis se fijó un valor de error alfa del 5%, por lo que se dan los resultados con un intervalo de confianza al 95% y se considerara diferencias estadísticamente significativas aquellas que presenten un valor $p < 0,05$.





4. RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio de 18 meses se recogieron un total de 310 muestras de LM, 210 de madres con RN a término, divididas en calostro, leche intermedia y leche madura, con 70 muestras de cada grupo, y 100 muestras de leche materna madura de madres con parto prematuro. Al mismo tiempo se analizaron 30 muestras de leches de fórmula disponibles en el mercado, divididas en 4 grupos: leches de inicio (n=13), leches de continuación (n=10), leches hidrolizadas (n=5), y leches especiales para prematuros (n=2).

4.1 POBLACIÓN:

En la tabla 7 se representan las características generales de las participantes, incluidos los antecedentes básicos de las madres y los bebés, según el momento del parto.

Tabla 7. Características recogidas de madres e hijos.

	Madres con parto a término (n=70)		Madres con parto prematuro (n=100)		p
	Media ± SD/nº	Rango/ %	Media±SD/nº	Rango / %	
Edad materna	31,91 ± 4,58	24 - 44	35,52 ± 5,66	23 - 46	0,234
Peso de la madre previo a la gestación (Kg)	69,74 ± 7,64	47 - 122	64,43±6,69	48 - 92	0,424
Ganancia excesiva de peso embarazo (Kg)	17	24,2 %	23	23%	0,645
Parto múltiple	2	2,78%	13	13%	0,593
HT gestacional	5	7,14%	17	17%	0,283
Diabetes gestacional	4	5,71%	10	10%	0,103
Residencia (Urbano vs Rural)	52 vs 18	75%	86 vs 14	86%	0,248
Ingesta de agua de pozo	14	20%	27	27%	0,323
Fumadoras	10	14,28%	12	12%	0,548
Edad gestacional (semanas)	39,1±1,08	37 - 41,3	31,15 ± 3,25	24,33 - 34,66	0,043
Peso del recién nacido (g)	2990±391	2410-3830	1445±554	670-2790	0,047

g: gramos; HT: Hipertensión; kg: kilogramos; SD: Desviación estándar.

Comparando las características de los dos grupos, resultan dos grupos homogéneos sin diferencias significativas excepto en la media de edad gestacional y el peso de los recién nacidos, con una edad gestacional media de 39 semanas y un peso medio de 2990 g en los partos a término, en frente de 31 semanas de edad gestacional media y peso medio al nacimiento de 1445 gramos en los partos pretérmino.

4.2 CONCENTRACIONES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS EN LA LECHE MATERNA

En la Tabla 8, 9 y 10 se presenta la concentración de los 35 minerales y oligoelementos en muestras de LM de las 70 madres de RN a término en diferentes etapas de la lactancia y de leche madura de 100 madres de RN prematuros. Los oligoelementos están clasificados en minerales, oligoelementos esenciales y oligoelementos tóxicos.

Tabla 8. Concentración de los minerales según el tipo de leche materna.

Elemento (mg/L)	Tipo de leche	Media±SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Ca	TC	245,36±49	233,43	257,29	0,006
	TI	270,59±73	250,92	290,27	
	TM	291,04±53	278,09	303,99	
	PM	298,76±57	280,36	310,17	
K	TC	333,46±94	308,14	458,78	>0,999
	TI	350,06±70	332,84	467,28	
	TM	434,10±119	405,31	462,89	
	PM	373,65±103	352,92	494,38	
Mg	TC	29,91±7	28,19	41,62	>0,999
	TI	35,98±6	34,12	37,84	
	TM	38,19±8	36,21	40,17	
	PM	37,36±6	36,16	38,56	
Na	TC	188,88 ±53	106,14	131,61	>0,999
	TI	122,36±87	99,05	145,68	
	TM	124,93±60	110,18	139,68	
	PM	131,39±34	124,48	138,30	
P	TC	134,85±19	130,28	139,62	>0,999
	TI	129,62±25	122,85	136,39	
	TM	128,39±27	121,67	135,10	
	PM	125,31±31	119,10	131,51	
Ca:P ratio	TC	1,82:1	1,79:1	1,84:1	0,734
	TI	2,09:1	2,04:1	2,12:1	
	TM	2,27:1	2,26:1	2,35:1	
	PM	2,38:1	2,35:1	2,39:1	

Ca: Calcio; K: Potasio; Mg: Magnesio; Na: Sodio; P: Fósforo; PM: Leche prematura; TC: Calostro a término; TI: Leche intermedia a término; TM: Leche madura a término.

La leche de las madres de los neonatos a término y pretérmino no presentaron diferencias significativas entre las concentraciones de los minerales con la excepción de los valores del Ca. Objetivamos un aumento significativo en las concentraciones de calcio a medida que avanza la lactancia, siendo la concentración de Ca en la leche madura significativamente mayor respecto al calostro ($p=0,006$). También observamos un aumento significativo en las leches pretérmino (2,65%) respecto a la leche a término ($p=0,024$). La PM presenta un ligero incremento medio del Na (17%) y valores inferiores para el K (13,9%), el Mg (2,17%) y el P (2,39%) respecto a la leche madura a término.

En la leche a término, el K y el Mg presentan valores incrementados conforme avanza la lactancia. En la TM respecto al TC, el K se incrementa en un 25%, y el Mg lo hace en un 12% entre ambos tipos de leche materna. El Na (en un 66%) igual que el P (en un 5%) disminuyen su concentración conforme avanza la lactancia. El Na es el mineral que presenta una mayor variación entre las concentraciones medias del calostro y las de la leche madura. El cociente Ca/P también se incrementa, en este caso en un 25%, dado que aumenta la concentración de Ca (en un 16%) y disminuye ligeramente el P (en un 5%).

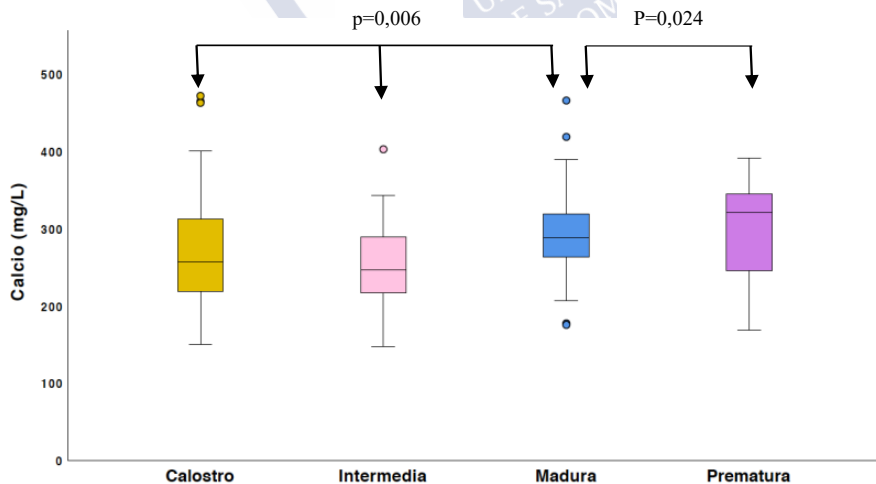


Figura 1. Concentración de calcio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en la leche materna madura a término respecto al calostro y en la leche materna pretérmino respecto a la leche materna madura a término con diferencias significativas.

Tabla 9. Concentración de los oligoelementos esenciales según el tipo de leche materna.

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	Tipo de leche	Media \pm SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Co	TC	0,057 \pm 0,02	0,049	0,065	>0,999
	TI	0,052 \pm 0,06	0,037	0,067	
	TM	0,044 \pm 0,02	0,039	0,050	
	PM	0,052 \pm 0,01	0,049	0,056	
Cr	TC	3,61 \pm 0,99	3,38	3,85	>0,999
	TI	3,5 \pm 0,00	3,5	3,5	
	TM	3,5 \pm 0,00	3,5	3,5	
	PM	3,22 \pm 1,04	3,01	3,71	
Cu	TC	339,34 \pm 185	211,20	289,03	0,029
	TI	269,15 \pm 135	236,02	302,29	
	TM	250,11\pm163	290,21	389,86	
	PM	265,33 \pm 71	251,03	279,63	
Fe	TC	187,70 \pm 90	162,82	211,32	>0,999
	TI	185,28 \pm 78	166,09	204,46	
	TM	176,51 \pm 94	157,97	198,96	
	PM	138,43 \pm 83	156,71	190,15	
I	TC	108,63 \pm 51	94,96	122,3	>0,999
	TI	121,95 \pm 51	109,37	134,52	
	TM	127,98 \pm 88	106,84	149,12	
	PM	95,18 \pm 53	84,57	105,79	
Mn	TC	2,60 \pm 3,50	1,67	3,54	0,039
	TI	1,74 \pm 0,75	1,56	1,93	
	TM	1,68\pm1,00	1,44	1,92	
	PM	1,99 \pm 0,93	1,80	2,18	
Mo	TC	1,88 \pm 1,2	1,47	2,29	< 0,001
	TI	1,22 \pm 1,98	0,82	1,76	
	TM	0,96\pm1,16	0,68	1,25	
	PM	0,70 \pm 1,17	0,47	0,94	
Se	TC	10,82 \pm 3,41	9,90	11,73	0,001
	TI	9,91 \pm 1,95	9,44	10,38	
	TM	8,87\pm2,44	8,28	9,47	
	PM	4,97 \pm 3,77	4,22	9,72	
Zn	TC	1237,76 \pm 949	762,22	1248,20	>0,999
	TI	1041,41 \pm 911	797,25	1285,57	
	TM	1005,21 \pm 1019	1004,30	1471,22	
	PM	558,95 \pm 716	316,06	1401,85	

Co: Cobalto; Cr: Cromo; Cu: Cobre; Fe: Hierro; I: Yodo; Mn: Manganeso; Mo: Molibdeno; PM: Leche prematura; Se: Selenio; TC: Calostro a término; TI: Leche intermedia a término; TM: Leche madura a término; Zn: Zinc.

Se puede observar una disminución significativa en los niveles de Cu (un 26%, $p=0,029$), de Mn (un 35%, $p=0,039$), de Mo (un 68%, $p<0,001$) y de Se (un 12%, $p=0,001$) a medida que avanza la lactancia hacia la leche madura, en el caso del Mo con valores 3 veces menores que en la etapa de calostro.

Al comparar la leche materna a término con la prematura encontramos una disminución significativa en la leche prematura en la concentración del Cr (un 13,71%, $p=0,036$), del Fe (un 25,75%, $p=0,016$), del I (un 25,63%, $p=0,045$), del Se (un 48,97%, $p<0,001$) y del Zn (un 44,39%, $p<0,001$), siendo más llamativa la disminución en los valores de Se y Zn. En otras palabras, las leches maternas maduras de los RN pretérmino en contraste con las de los niños a término tienen significativamente menos Cr, una cuarta parte menos de Fe, I, Mo y Mg, y casi la mitad menos de Se y de Zn; y concentraciones elevadas, pero no significativamente, para el Co (un 27,7%), el Cu (un 6,09%) y el Mn (un 18,8%).

En las figuras 2 a 8 se muestran la distribución de las concentraciones de los oligoelementos esenciales según las diferentes etapas de LM que son significativas, en diagramas de caja.

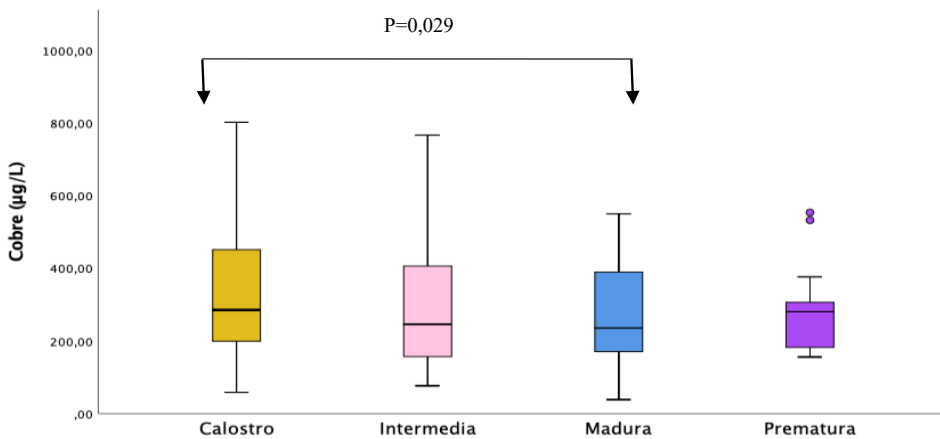


Figura 2. Concentración de cobre en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles disminuyen en la leche materna madura a término respecto al calostro con diferencias significativas.

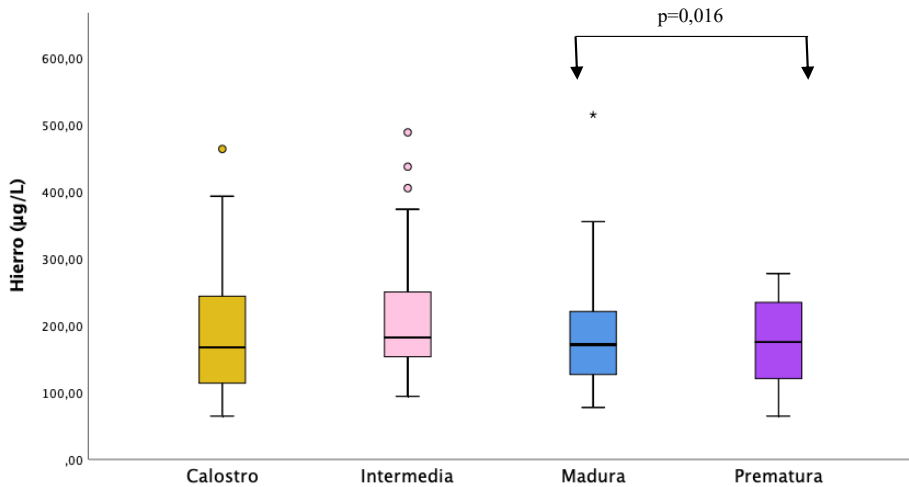


Figura 3. Concentración de hierro en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles disminuyen en la leche materna pretérmino respecto a la leche materna madura a término con diferencias significativas.

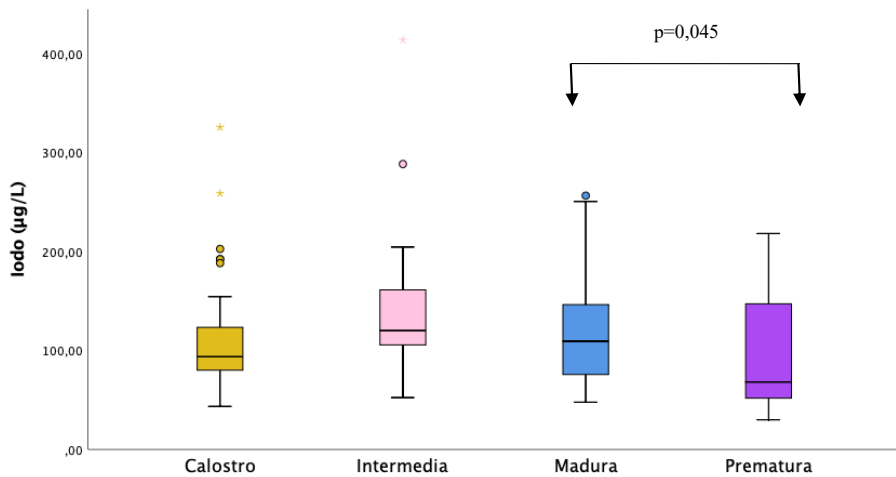


Figura 4. Concentración de yodo en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles disminuyen en la leche materna pretérmino respecto a la leche materna madura a término con diferencias significativas.

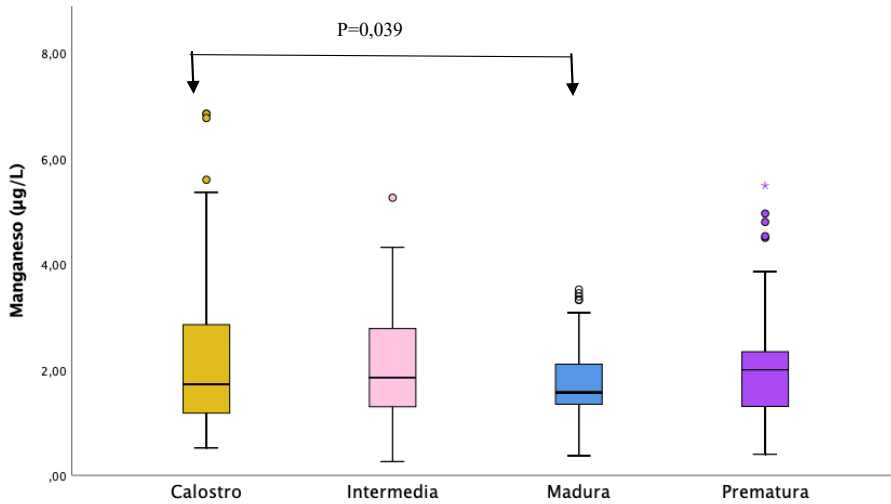


Figura 5. Concentración de manganeso en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles disminuyen en la leche materna madura a término respecto al calostro con diferencias significativas.

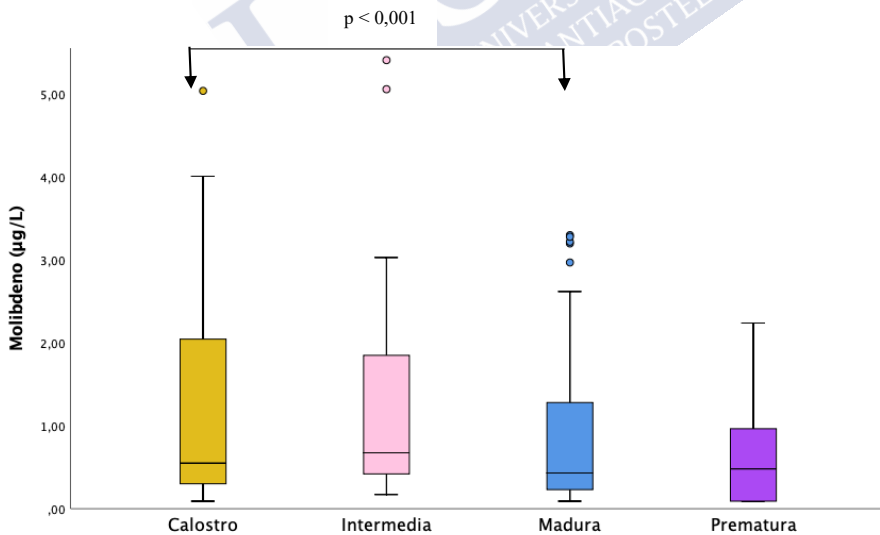


Figura 6. Concentración de molibdeno en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles disminuyen en la leche materna madura a término respecto al calostro con diferencias significativas.

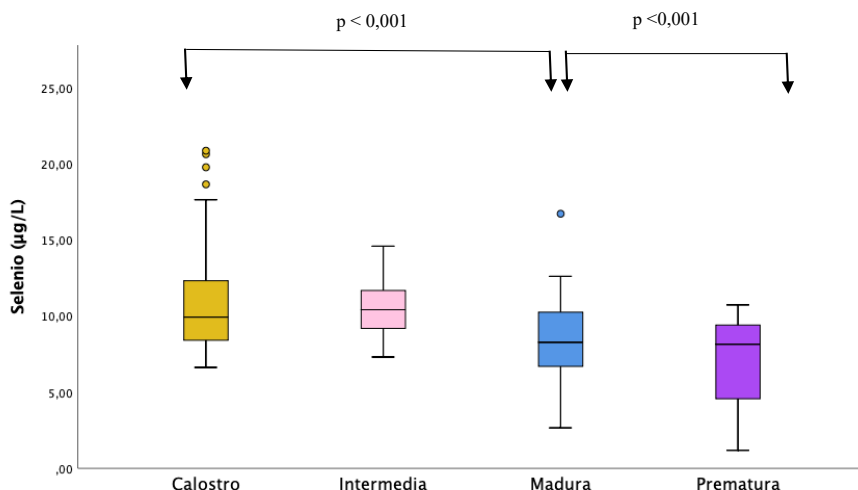


Figura 7. Concentración de selenio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles disminuyen en la leche materna madura a término respecto al calostro con diferencias significativas, y disminuyen en la leche materna pretérmino respecto a la leche materna madura a término.

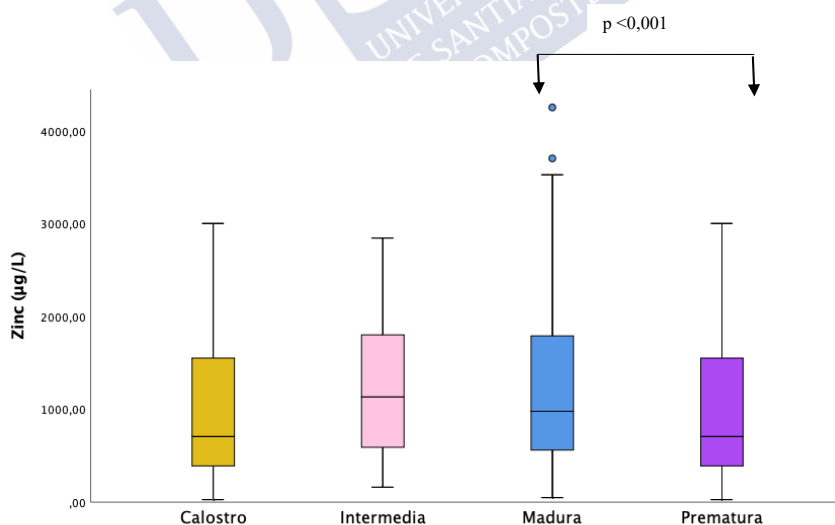


Figura 8. Concentración de zinc en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles disminuyen en la leche materna pretérmino respecto a la LM madura a término con diferencias significativas.

En la leche materna a término todos los oligoelementos esenciales disminuyen sus concentraciones desde las encontradas en el TC a las de la TM, algunos en cantidades llamativas, caso del Se y del Zn, como ya hemos descrito. Solo el I presenta un perfil ascendente, opuesto, en los valores medios encontrados en el TC, respecto la TI y la TM con un incremento del 17%.

La PM presenta concentraciones medias mayores de oligoelementos esenciales, respecto a la TM en tres de ellos: en el Co en un 27%, en el Cu en un 6% y en el Mn en un 18,8%, aunque no son significativas. Y presenta concentraciones menores en 6 de ellos: significativas para el Cr (un 21,6%), el Fe (un 48%), el I (un 25,6%), el Se (un 48%) y el Zn (un 44,4%). El Mo se incrementa en un 27% pero la diferencia no es significativa ya que presenta una gran variabilidad en los resultados analíticos.

Tabla 10. Concentración de los 21 oligoelementos tóxicos según el tipo de leche materna

Elemento (µg/L)	Tipo de leche	Media±SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Al	TC	8,54±3,12	7,79	9,28	0,736
	TI	7,44±4,05	6,35	8,52	
	TM	7,29±1,11	7,02	7,56	
	PM	7,92±4,38	7,04	8,79	
Ag*	TC	0,10±0,00	0,10	0,10	>0,999
	TI	0,10±0,00	0,10	0,10	
	TM	0,10±0,00	0,10	0,10	
	PM	0,10±0,00	0,10	0,10	
As	TC	0,93±1,54	0,52	1,34	>0,999
	TI	1,11±1,171	0,70	1,51	
	TM	1,37±1,82	0,93	1,82	
	PM	1,17±0,60	1,05	1,29	
Ba	TC	4,02±8,52	1,98	6,05	>0,999
	TI	3,77±4,68	2,51	5,02	
	TM	3,25±2,45	2,65	3,85	
	PM	2,46±1,07	2,24	2,67	
Be*	TC	0,10±0,00	0,10	0,10	>0,999
	TI	0,10±0,00	0,10	0,10	
	TM	0,10±0,00	0,10	0,10	
	PM	0,10±0,00	0,10	0,10	

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	Tipo de leche	Media \pm SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Cd	TC	0,18 \pm 0,07	0,16	0,20	0,754
	TI	0,16 \pm 0,05	0,14	0,17	
	TM	0,15 \pm 0,20	0,10	0,20	
	PM	0,45\pm0,40	0,35	0,54	
Cs	TC	5,48\pm4,86	2,84	8,12	0,049
	TI	4,17 \pm 4,86	3,01	5,33	
	TM	3,13 \pm 1,73	2,71	3,55	
	PM	9,17\pm5,00	8,17	10,17	
Ga	TC	1,84 \pm 0,37	1,74	1,94	>0,999
	TI	1,93 \pm 0,61	1,77	2,08	
	TM	2,08 \pm 0,51	1,95	2,20	
	PM	2,21 \pm 0,57	2,10	2,33	
Hg	TC	0,34 \pm 0,18	0,29	0,39	>0,999
	TI	0,32 \pm 0,12	0,29	0,35	
	TM	0,31 \pm 0,08	0,29	0,33	
	PM	0,42\pm0,31	0,45	0,18	
Li	TC	2,48 \pm 4,47	1,28	3,8	>0,999
	TI	2,04 \pm 2,99	1,32	2,75	
	TM	1,66 \pm 1,37	1,32	2,99	
	PM	1,94 \pm 1,69	1,61	2,28	
Ni	TC	1,8 \pm 0,00	1,80	1,80	>0,999
	TI	2,18 \pm 1,12	1,88	2,48	
	TM	2,35 \pm 2,69	1,69	3,00	
	PM	1,89 \pm 0,83	1,72	2,06	
Pb	TC	0,51 \pm 1,56	0,14	0,88	>0,999
	TI	0,33 \pm 0,38	0,22	0,43	
	TM	0,30 \pm 0,23	0,25	0,36	
	PM	0,10 \pm 0,01	0,09	0,10	
Pt	TC	0,10\pm0,04	0,03	0,16	0,025
	TI	0,05 \pm 0,04	0,04	0,06	
	TM	0,05 \pm 0,03	0,04	0,06	
	PM	0,04 \pm 0,01	0,04	0,04	
Rb	TC	427,41 \pm 130	392,51	462,31	0,013
	TI	448,36 \pm 131	416,22	480,51	
	TM	519,64\pm164	480,4	558,94	
	PM	492,31 \pm 97	472,95	511,66	
Sb	TC	0,07 \pm 0,04	0,05	0,08	>0,999
	TI	0,06 \pm 0,02	0,06	0,07	
	TM	0,06 \pm 0,04	0,05	0,07	
	PM	0,10 \pm 0,07	0,06	0,13	

Elemento (µg/L)	Tipo de leche	Media±SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Sn	TC	0,09±0,07	0,07	0,11	0,182
	TI	0,07±0,01	0,06	0,07	
	TM	0,07±0,00	0,07	0,07	
	PM	0,07±0,00	0,07	0,07	
Sr	TC	45,42±18	40,34	50,50	0,027
	TI	38,18±16	34,33	42,03	
	TM	36,36±12	33,40	39,32	
	PM	44,37±7,95	42,78	45,95	
Ti	TC	36,78±7,81	34,68	38,87	>0,999
	TI	37,25±13	34,02	40,48	
	TM	40,90±7,75	39,05	42,75	
	PM	48,82±23	45,06	54,58	
Tl	TC	0,03±0,01	0,03	0,03	>0,999
	TI	0,03±0,02	0,02	0,03	
	TM	0,04±0,03	0,02	0,05	
	PM	0,04±0,01	0,04	0,04	
U*	TC	0,004±0,00	0,004	0,004	>0,999
	TI	0,004±0,00	0,004	0,004	
	TM	0,004±0,00	0,004	0,004	
	PM	0,004±0,00	0,004	0,004	
V	TC	0,05±0,00	0,05	0,05	0,642
	TI	0,05±0,01	0,04	0,05	
	TM	0,05±0,00	0,05	0,05	
	PM	0,05±0,01	0,05	0,06	

*Valores por debajo del límite de detección.

Ag: Plata; Al: Aluminio; As: Arsénico; Ba: Bario; Be: Berilio; Cd: Cadmio; Cs: Cesio; Ga: Galio; Hg: Mercurio; Li: Litio; Ni: Níquel; PM: Leche prematura; Pb: Plomo; Pt: Platino; Rb: Rubidio; Sb: Antimonio; Sn: Estaño; Sr: Estroncio; TC: Calostro a término; TI: Leche intermedia a término; Ti: Titanio; Tl: Talio; TM: Leche madura a término; U: Uranio; V: Vanadio.

Se ha llevado a cabo por primera vez la determinación de los niveles de Talio en leche materna de niños a término (210 análisis) y de niños prematuros (100 análisis) encontrándonos con una concentración estable durante el transcurso de la lactancia desde $0,03\pm 0,01\mu\text{g/L}$ en el calostro hasta $0,04\pm 0,05\mu\text{g/L}$ en la leche madura, sin haber diferencias significativas con las concentraciones de la leche pretérmino ($0,04\pm 0,01\mu\text{g/L}$).

En el resto de oligoelementos tóxicos, se encuentran niveles aumentados en los elementos Cs, Pt y Sr en el TC, en comparación con la TI y la TM ($p < 0,050$). El TC presenta valores medios más altos, con respecto a la TI y la TM, en las concentraciones de 11 oligoelementos tóxicos: en el Al, Ba, Cs ($p=0,049$), Hg, Li, Pb, Pt ($p=0,025$), Sb, Sn y Sr ($p=0,027$), con diferencias significativas para el Cs, el Pt y el Sr; mientras que encontramos valores más bajos en 6 de ellos, en el As, Ga, Ni, Rb ($p=0,013$), Ti y Tl, con diferencias significativas en el Rb, y valores semejantes o iguales para 4 elementos, Ag, Be, U y V. En todos los casos la TI presenta valores intermedios entre las concentraciones medidas en el TC y la TM.

El único elemento tóxico donde encontramos un aumento significativo de los niveles en la TM ($519,64 \pm 164 \mu\text{g/L}$) respecto al TC ($427,130 \mu\text{g/L}$) y la TI ($448,36 \pm 131 \mu\text{g/L}$) es en el Rb ($p=0,013$), con un incremento del 15,90% sobre los valores de la TI y de un 21,58% sobre los del TC.

La TM respecto a la PM, de los 31 oligoelementos, presentan concentraciones más elevadas 9 de ellos, 6 con valores semejantes y 6 con valores más bajos. Los que presentan concentraciones elevadas son: el Al (en un 8,4%), el Cd (en un 200%), el Cs (en un 192%), el Ga (en un 6,25%), el Hg (en un 35,48%), el Li (en un 33,33%), el Sb (en un 33,33%), el Sr (en un 22,3%) y el Ti (en un 19,36%). Encontramos cambios significativos en las concentraciones de Cd ($p < 0,001$), Cs ($p < 0,001$), Hg ($p=0,019$), Sr ($p < 0,001$), y Ti ($p < 0,001$). El Ag, el Be, el Sn, el Ti, el U y el V presentaron valores iguales o muy semejantes. Los que tiene concentraciones más bajas son: el As (en un 14,5%), el Ba (en un 24,30%), el Ni (en un 19,57%), el Pb (en un 66,6%), el Pt (en un 20,06%) y el Rb (en un 5,26%); con diferencias significativas más bajas para el Ba ($p=0,047$), y el Pb ($p=0,004$). En resumen: La PM presenta valores significativos más altas de Cd, Cs, Hg, Sr y Ti, y valores más bajos de Ba y Pb, respecto a la TM.

En las figuras 9 a 15 se muestran la distribución de las concentraciones de los oligoelementos tóxicos según las diferentes etapas de LM que son significativos, en diagramas de caja.

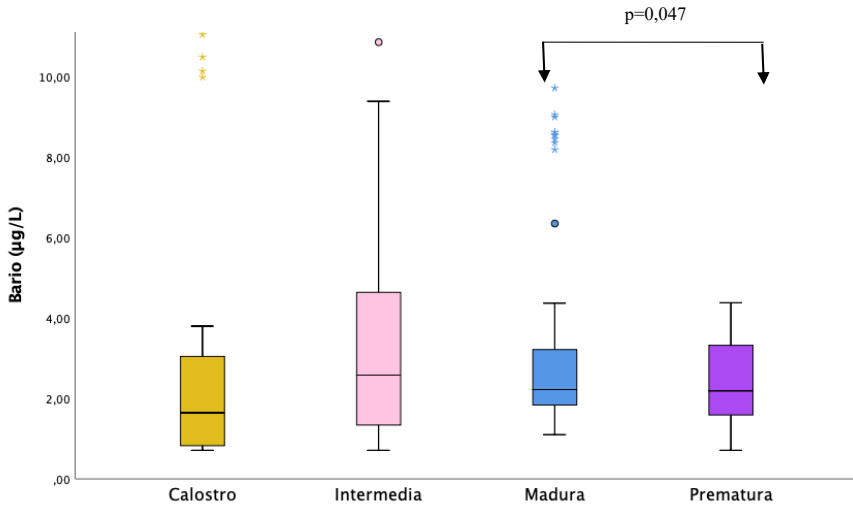


Figura 9. Concentración de bario en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en la leche materna madura a término respecto a la leche materna pretérmino con diferencias significativas.

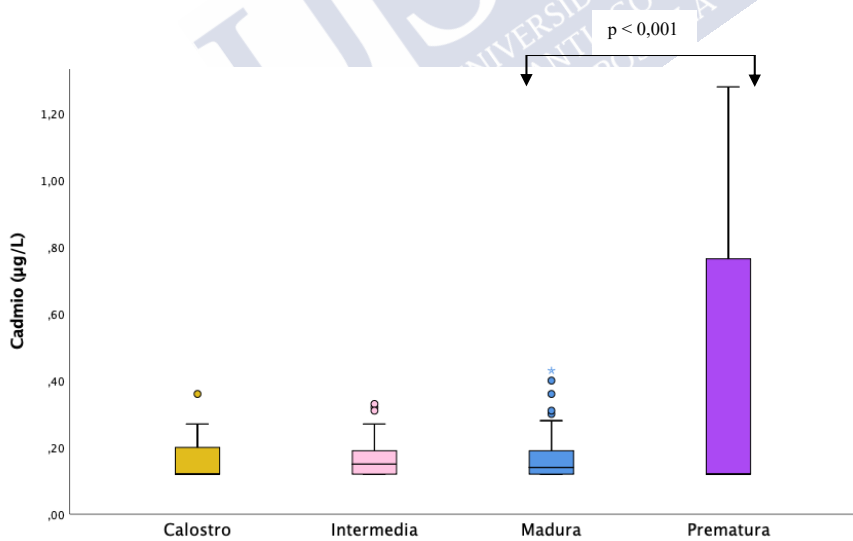


Figura 10. Concentración de cadmio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en leche materna pretérmino respecto a la leche materna madura a término con diferencias significativas.

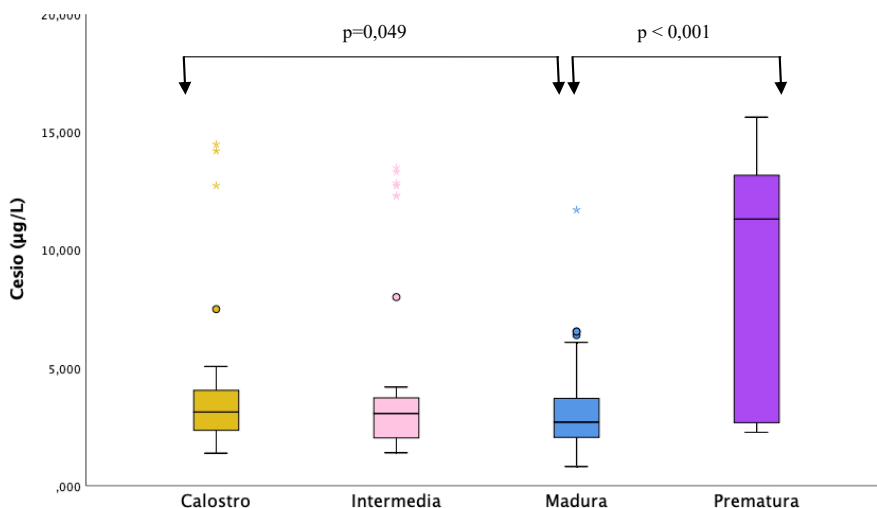


Figura 11. Concentración de cesio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en calostro respecto al leche materna madura a término y en la leche materna pretérmino respecto a la leche materna madura a término con diferencias significativas.

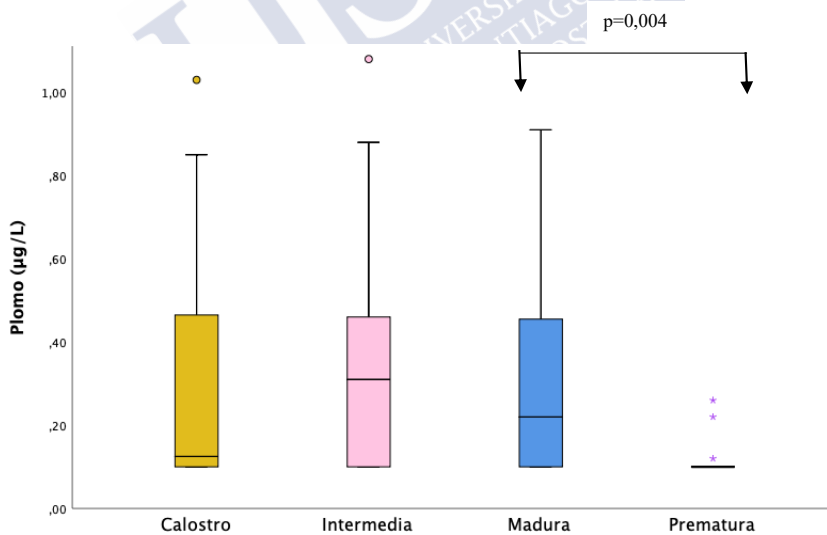


Figura 12. Concentración de plomo en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en la LM madura a término respecto a la leche materna pretérmino con diferencias significativas.

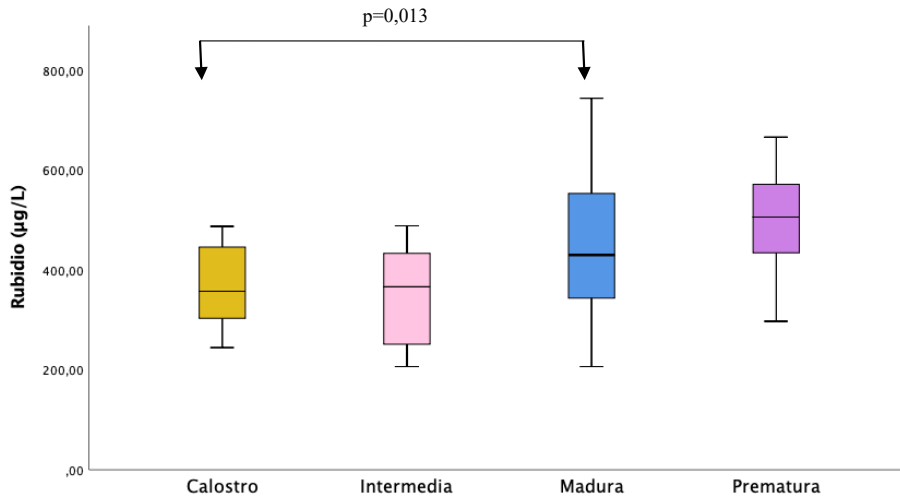


Figura 13. Concentración de rubidio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en la leche materna madura a término respecto al calostro con diferencias significativas.

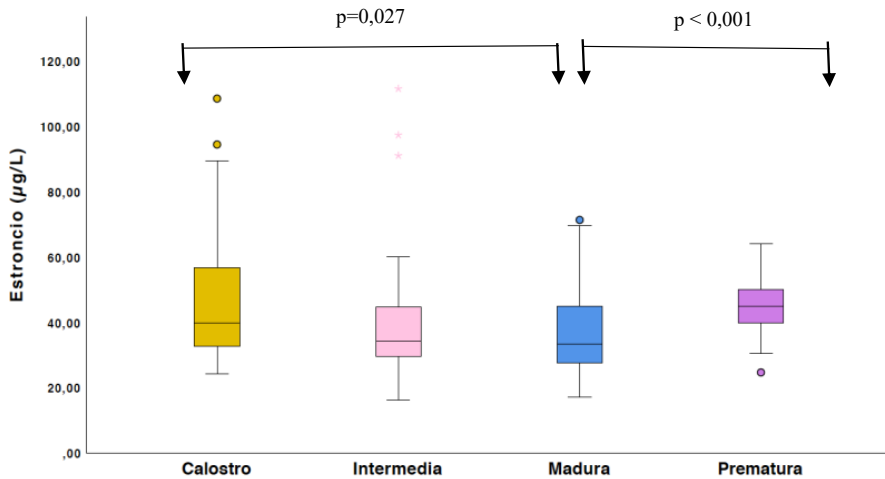


Figura 14. Concentración de estroncio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en calostro respecto al leche materna madura a término y en la leche materna pretérmino respecto a la leche materna madura a término con diferencias significativas.

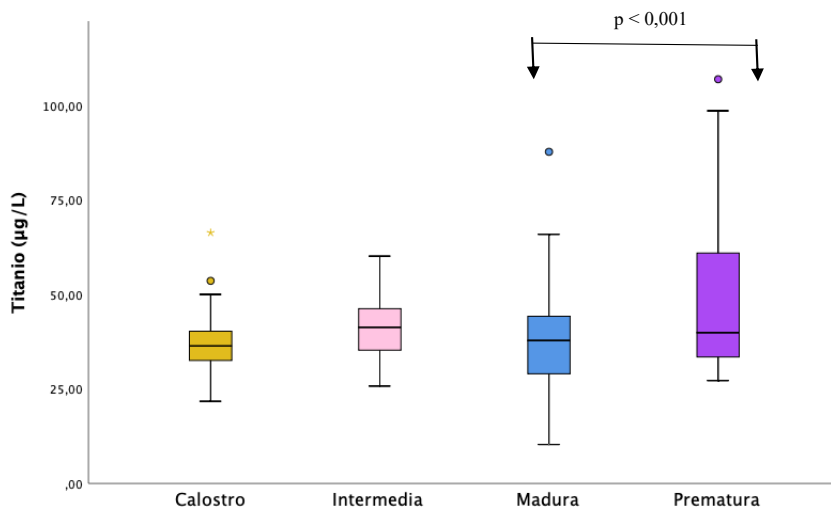


Figura 15. Concentración de titanio en leche materna a término (calostro, intermedia y madura) y de leche materna pretérmino. Los niveles aumentan en la leche materna pretérmino respecto a la LM madura a término con diferencias significativas.

4.3 CONCENTRACIONES DE OLIGOELEMENTOS EN LAS LECHES DE FÓRMULA PARA LACTANTES:

En las tablas 11, 12 y 13 se presenta la concentración de los 35 elementos en muestras de leches de fórmula infantil de fórmulas disponibles en España para menores de un año estudiados en nuestro trabajo, divididas en 4 grupos: fórmulas de inicio (n=13), de continuación (n=10), hidrolizadas (n=5) y de prematuros (n=2).

Tabla 11. Concentración de los minerales en leches de fórmula.

Elemento (mg/L)	Tipo de leche	Media±SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Ca	FI	419,93±135	345,14	494,72	>0,999
	FC	417,62±30	391,96	443,28	
	FH	430,2±86	322,49	537,90	
	FP	509,5±64	393	626	
K	FI	473,06±43	448,92	497,21	>0,999
	FC	443,87±9,26	436,12	451,62	
	FH	522,8±95	404,43	641,16	
	FP	518±49	432,28	962,71	
Mg	FI	50,46±7,21	46,46	54,46	>0,999
	FC	53,12±15	40,36	65,88	
	FH	59,8±13	43,64	75,95	
	FP	67,5±7,77	62	73	
Na	FI	147,06±27	131,72	162,40	>0,999
	FC	161,12±12	150,49	171,75	
	FH	190,6±62	113,57	267,72	
	FP	218,5±54	180	257	
P	FI	271,37±12	253,67	281,59	>0,999
	FC	284±56	261,15	288,77	
	FH	312±61	271	367	
	FP	319±67	261,15	381,59	

Ca: Calcio; FI: Fórmula de inicio; FC: Fórmula de continuación; FH: Fórmula hidrolizada; FP: Fórmula de prematuros; K: Potasio; Mg: Magnesio; Na: Sodio; P: Fósforo.

No encontramos ninguna diferencia significativa entre los 4 tipos distintos de leches de fórmula analizadas en el análisis de las concentraciones de los oligoelementos minerales.

Tabla 12. Concentración de los oligoelementos esenciales en leches de fórmula.

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	Tipo de leche	Media \pm SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Co	FI	0,25 \pm 0,13	0,17	0,33	<0,001
	FC	0,25 \pm 0,10	0,16	0,34	
	FH	0,11 \pm 0,06	0,02	0,19	
	FP	0,71\pm0,52	0,34	1,08	
Cr	FI	2,71 \pm 0,99	2,16	3,26	<0,001
	FC	2,35 \pm 0,90	1,60	3,11	
	FH	5,40\pm3,9	0,54	10,27	
	FP	4,5 \pm 4,43	7,4	7,6	
Cu	FI	383,03 \pm 82	337,25	428,81	>0,999
	FC	350,74 \pm 63	297,81	403,68	
	FH	397,33 \pm 66	314,82	479,84	
	FP	420,94 \pm 23	206,96	634,91	
Fe	FI	6069,33 \pm 1264	5369,12	6769,54	0,027
	FC	8925,65\pm503	8505,13	9346,36	
	FH	7280,2 \pm 1855	4939,29	9621,10	
	FP	6269 \pm 394	2793,26	9814,03	
I	FI	133,03 \pm 34	114,05	152,00	>0,999
	FC	156,36 \pm 18	141,07	171,05	
	FH	140,07 \pm 6,52	131,96	148,17	
	FP	163,26 \pm 19	149,24	177,28	
Mn	FI	92,8 \pm 70	53,58	133,11	<0,001
	FC	57,35 \pm 27	34,27	80,43	
	FH	172,37\pm139	37,9	341,22	
	FP	60,19 \pm 26	31,37	79,02	
Mo	FI	31,30 \pm 17	21,80	40,80	0,012
	FC	28,19 \pm 4,89	24,10	32,28	
	FH	21,12\pm12	5,72	36,52	
	FP	33,13 \pm 0,58	27,86	38,40	
Se	FI	18,58 \pm 4,74	15,95	21,21	>0,999
	FC	17,46 \pm 3,79	14,29	20,63	
	FH	21,02 \pm 3,96	16,10	25,94	
	FP	19,74 \pm 3,44	17,31	22,18	
Zn	FI	4647,53 \pm 888	4155,71	5139,35	>0,999
	FC	4910,37 \pm 1070	4015,30	5805,44	
	FH	5045,8 \pm 1670	2970,98	7120,61	
	FP	6708 \pm 748	6179	7237	

Co: Cobalto; Cr: Cromo; Cu: Cobre; Fe: Hierro; FI: Fórmula de inicio; FC: Fórmula de continuación; FH: Fórmula hidrolizada; FP: Fórmula de prematuros; I: Yodo; Mn: Manganeso; Mo: Molibdeno; Se: Selenio; Zn: Zinc

Encontramos cambios significativos en las concentraciones de los oligoelementos esenciales entre las FI y FC, con aumentos en el contenido de Fe ($p=0,027$) en las FC. Por otro lado, en las leches de FH se observa un aumento significativo de las concentraciones de Cr y Mn ($p <0,001$); mientras que se detecta una disminución significativa en el Mo ($p=0,012$). Por último, en las FP solo hemos encontrado un aumento significativo en el Co ($p <0,001$), con valores hasta 7 veces superiores que en las FH (0,71vs 0,11 $\mu\text{g/L}$) y casi 3 veces respecto a la FI y FC (0,25 $\mu\text{g/L}$).

Tabla 13. Concentraciones de los oligoelementos tóxicos en leches de fórmula.

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	Tipo de leche	Media \pm SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Al	FI	54,5 \pm 27	39,20	69,79	0,012
	FC	47,07 \pm 25	25,98	68,15	
	FH	60,81\pm45	4,77	116,85	
	FP	37,44 \pm 11	29,51	45,28	
Ag*	FI	0,10 \pm 0,00	0,10	0,10	>0,999
	FC	0,10 \pm 0,00	0,10	0,10	
	FH	0,10 \pm 0,00	0,10	0,10	
	FP	0,1 \pm 0,00	0,10	0,10	
As	FI	0,49 \pm 0,13	0,41	0,56	>0,999
	FC	1,39 \pm 0,12	0,4	3,07	
	FH	0,61 \pm 0,42	0,08	1,14	
	FP	0,48 \pm 0,12	0,4	0,57	
Ba*	FI	6,7 \pm 0,00	6,7	6,7	>0,999
	FC	6,7 \pm 0,00	6,7	6,7	
	FH	6,7 \pm 0,00	6,7	6,7	
	FP	6,7 \pm 0,00	6,7	6,7	
Be	FI	15,68 \pm 5,51	12,62	18,73	>0,999
	FC	17,15 \pm 4,5	13,33	20,98	
	FH	12,75 \pm 4,39	7,29	18,20	
	FP	14,73 \pm 4,75	12,68	16,79	
Cd*	FI	0,06 \pm 0,00	0,06	0,06	>0,999
	FC	0,06 \pm 0,00	0,06	0,06	
	FH	0,06 \pm 0,00	0,06	0,06	
	FP	0,06 \pm 0,00	0,06	0,06	
Cs	FI	0,88 \pm 0,62	0,56	1,22	>0,999
	FC	0,78 \pm 0,23	0,58	0,98	
	FH	0,66 \pm 0,45	0,09	1,23	
	FP	0,32 \pm 0,21	0,17	0,48	

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	Tipo de leche	Media \pm SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Ga	FI	2,49 \pm 0,78	2,06	2,93	0,438
	FC	2,37 \pm 0,55	1,90	2,83	
	FH	2,23 \pm 1,04	0,93	3,52	
	FP	2,93 \pm 0,98	2,24	3,63	
Hg	FI	0,78 \pm 0,45	0,49	1	>0,999
	FC	0,75 \pm 0,46	0,36	1,13	
	FH	0,60 \pm 0,21	0,33	0,89	
	FP	0,66 \pm 0,10	0,6	0,7	
Li	FI	1,46 \pm 0,63	1,11	1,81	>0,999
	FC	1,52 \pm 0,65	0,97	2,07	
	FH	1,62 \pm 0,89	0,52	2,73	
	FP	1,61 \pm 0,24	1,44	1,79	
Ni	FI	5,71 \pm 4,79	3,05	8,37	>0,999
	FC	3,65 \pm 1,27	2,58	4,71	
	FH	4,32 \pm 1,53	2,41	6,23	
	FP	6,62 \pm 4,5	3,4	9,8	
Pb	FI	0,37 \pm 0,13	0,29	0,44	>0,999
	FC	0,36 \pm 0,22	0,17	0,54	
	FH	0,33 \pm 0,18	0,10	0,56	
	FP	0,51 \pm 0,28	0,3	0,7	
Pt*	FI	0,12 \pm 0,00	0,12	0,12	>0,999
	FC	0,12 \pm 0,00	0,12	0,12	
	FH	0,12 \pm 0,00	0,12	0,12	
	FP	0,12 \pm 0,00	0,12	0,12	
Rb	FI	287,13 \pm 137	210,92	363,33	>0,999
	FC	292,61 \pm 105	204,02	381,19	
	FH	164,09 \pm 144	15,11	363,96	
	FP	105,26 \pm 65	59,56	151	
Sb	FI	0,79\pm0,69	0,41	1,18	0,017
	FC	0,32 \pm 0,27	0,09	0,55	
	FH	0,53 \pm 0,51	0,1	1,41	
	FP	0,20 \pm 0,14	0,1	0,3	
Sn	FI	3,96 \pm 2,96	0,76	5,16	<0,001
	FC	3,14 \pm 2,57	0,28	10,04	
	FH	19,52\pm11	0,76	46,2	
	FP	0,92 \pm 0,13	0,83	1,02	
Sr	FI	145,86 \pm 53	116,31	175,40	<0,001
	FC	121,82 \pm 28	97,73	145,90	
	FH	133,61 \pm 70	46,29	220,42	
	FP	355,01\pm336	117,01	593,02	

Elemento (µg/L)	Tipo de leche	Media±SD	Intervalo para la media		p
			Inferior	Superior	
Ti	FI	49±13	41,65	53,54	>0,999
	FC	45,63±8,44	38,57	52,70	
	FH	47,16±21	20,52	73,80	
	FP	60,95±21	44,46	77,44	
Tl	FI	0,03±0,01	0,02	0,04	>0,999
	FC	0,03±0,01	0,02	0,04	
	FH	0,03±0,02	0,006	0,06	
	FP	0,08±0,03	0,06	0,11	
U	FI	0,56±0,32	0,37	1,004	0,014
	FC	0,70±0,58	0,21	1,19	
	FH	0,64±0,69	0,2	1,88	
	FP	0,94±0,71	0,44	1,45	
V	FI	0,87±0,28	0,71	1,03	0,019
	FC	1,84±0,48	1,43	2,25	
	FH	4,62±2,96	0,79	11,24	
	FP	6,15±4,92	0,57	9,28	

*Valores por debajo del límite de detección

Ag: Plata; Al: Aluminio; As: Arsénico; Ba: Bario; Be: Berilio; Cd: Cadmio; Cs: Cesio; FI: Fórmula de inicio; FC: Fórmula de continuación; FH: Fórmula hidrolizada; FP: Fórmula de prematuros; Ga: Galio; Hg: Mercurio; Li: Litio; Ni: Níquel; P: Leche prematura; Pb: Plomo; Pt: Platino; Rb: Rubidio; Sb: Antimonio; Sn; Estaño; Sr: Estroncio; Ti: Titanio; Tl: Talio; U: Uranio; V: Vanadio.

En el análisis de los oligoelementos tóxicos se ha realizado por primera vez la determinación de los niveles de Ga, Li, Tl y U en las diferentes fórmulas infantiles, con los siguientes hallazgos de concentraciones medias, expresadas en µg/L:

- Ga (FI-2,49±0,78; FC-2,37±0,55; FH-2,23±1,04 y FP-2,93±0,9, sin diferencias significativas entre ellas.

- Li (FI-1,46±0,63; FC-1,52±0,65; FH-1,62±0,89 y FP-1,61±0,24, sin diferencias significativas entre ellas.

- Tl (FI- 0,03±0,01; FC-0,03±0,01; FH-0,03±0,02 y FP- 0,08±0,03 sin diferencias significativas entre ellas, aunque tenemos que resaltar que las FP presentan una concentración media que es 2,7 veces la de las FI.

- U (FI-0,56±0,32; FC-0,70±0,58; FH-0,64±0,69 y FP-**0,94±0,71** con diferencias significativas ($p=0,014$) entre los valores de la FP y los de las restantes formas de leches de fórmula.

En las leches de fórmula de inicio se observa un aumento significativo de Sb ($p=0,017$). En las leches de fórmula hidrolizada se observa un aumento significativo de las concentraciones de Al y Sn ($p \leq 0,012$). En las leches de fórmula para prematuros hemos encontrado un aumento significativo en el Sr, el U y el V ($p \leq 0,019$).

4.4 COMPARACIÓN DE NIVELES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ENTRE LACTANCIA MATERNA Y LECHE DE FÓRMULA.

En las tablas 14, 15 y 16 se muestran los resultados de comparar los niveles de los minerales y oligoelementos entre las muestras de LM, tanto a término como prematura, con los encontrados en las fórmulas infantiles equivalentes para el mismo período de la lactancia. Se ha calculado la diferencia entre las concentraciones y se muestra en forma de porcentaje.

Tabla 14. Comparación de la concentración de minerales en las leches de fórmula infantil vs la leche materna.

Elemento (mg/dL)	FI vs TM		FH vs TM		FP vs PM	
	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor
Ca	30	<0,001	32	<0,001	41	<0,001
K	26	<0,001	32	0,004	27	0,063
Mg	24	<0,001	36	<0,001	44	<0,001
Na	15	0,387	34,44	0,064	39,86	0,083
P	0,6	>0,999	3,90	>0,999	3	>0,999

Ca: Calcio; FI: Fórmula de inicio; FH: Fórmula hidrolizada; FP: Fórmula para prematuros; K: Potasio; Mg: Magnesio; Na: Sodio; P: Fósforo; PM: Leche materna prematura; TM: Leche madura a término.

Al observar los niveles de minerales, encontramos un aumento significativo en los elementos Ca, K y Mg en las FI y FC en comparación con la TM ($p \leq 0,004$). Si observamos los niveles en las FP, encontramos un aumento significativo solamente en el Ca y en el Mg ($p < 0,001$) respecto a las PM, con diferencias mayores que las que existen entre las FI y FC con la TM.

Tabla 15. Comparación de la concentración de oligoelementos esenciales en las leches de fórmula infantil vs la leche materna.

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	FI vs TM		FH vs TM		FP vs PM	
	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor
Co	80	<0,001	45	0,062	90	<0,001
Cr	-28	0,073	35	<0,001	16	0,534
Cu	29	0,083	32	0,073	37	0,073
Fe	96	<0,001	97	<0,001	99	<0,001
I	8,32	>0,999	5	>0,999	41	0,087
Mn	98	<0,001	98	<0,001	96	0,008
Mo	96	<0,001	95,40	<0,001	97	<0,001
Se	52	<0,001	57	<0,001	94	0,008
Zn	73	<0,001	75,48	<0,001	70,79	<0,001

Co: Cobalto; Cr: Cromo; Cu: Cobre; Fe: Hierro; FI: Fórmula de inicio; FH: Fórmula hidrolizada; FP: Fórmula para prematuros; I: Yodo; Mn: Manganeseo; Mo: Molibdeno; PM: Leche materna prematura; Se: Selenio; TM: Leche madura a término; Zn: Zinc.

Al analizar los oligoelementos esenciales, encontramos un aumento significativo en las leches de fórmula en el Co ($p < 0,001$), Fe ($p < 0,001$), Mn ($p \leq 0,008$), Mo ($p < 0,001$), Se ($p \leq 0,008$) y el Zn ($p < 0,001$) en comparación con la LM, tanto en el caso de las leches para niños a término como para niños prematuros. Solo en el caso del Cr, el Cu y el I, no se encuentran diferencias significativas entre las concentraciones de las LF y la LM.

Las FI están especialmente enriquecidas en Fe, en Mo y en Mn y en menores proporciones en Co, Zn, Se, I, Cu y Cr. En la evaluación comparativa de las concentraciones medias de los oligoelementos esenciales entre las TM y las de las FI observamos que estas últimas presentan en general, proporciones mayores de oligoelementos con la excepción del Cr, del que un 28% de las FI presentan valores inferiores a los de la TM. Es resaltable que en las concentraciones de I es en donde encontramos menos porcentajes diferentes entre las FI y la TM.

Las FH presentan un patrón ligeramente diferente ya que se observa una concentración mayor de Cr y no presentan diferencias en cuanto a la concentración de Co que encontramos en las FI y FP versus la LM de RNT y RNP.

Tabla 16. Comparación de la concentración de oligoelementos tóxicos en las leches de fórmula infantil vs la leche materna.

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	FI vs TM		FH vs TM		FP vs PM	
	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor
Ag	0,00	>0,999	0,00	>0,999	0,00	>0,999
Al	86	<0,001	88	<0,001	78	<0,001
As	11	0,763	52	0,063	42	0,094
Ba	51	0,063	49	0,065	37	0,064
Be	43	0,065	42	0,074	41	0,069
Cd	34	0,069	34	0,084	45	0,073
Cs	28	0,073	22	0,324	5	0,999
Ga	17	0,528	13	>0,999	24	0,424
Hg	53	<0,001	46	0,634	36	0,084
Li	13	0,634	1,85	>0,999	20	0,376
Ni	58	<0,001	45,60	0,068	71	0,001
Pb	16	0,286	6,06	>0,999	20	0,725
Pt	50	0,095	50	0,073	42	0,094
Rb	-56	0,001	-54	<0,001	-78	0,006

Elemento (µg/L)	FI vs TM		FH vs TM		FP vs PM	
	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor	Diferencia %	p- valor
Sb	92	<0,001	83	<0,001	45	0,062
Sn	75,06	<0,001	72	<0,001	87	<0,001
Sr	75,06	<0,001	58	0,074	8	>0,999
Ti	23	0,176	20,99	0,985	18	0,635
Tl	10	>0,999	20	0,853	50	0,072
U	98	<0,001	99	<0,001	99	<0,001
V	94	<0,001	62	<0,001	79	<0,001

Ag: Plata; Al: Aluminio; As: Arsénico; Ba: Bario; Be: Berilio; Cd: Cadmio; Cs: Cesio; FI: Fórmula de inicio; FH: Fórmula hidrolizada; FP: Fórmula para prematuros; Ga: Galio; Hg: Mercurio; Li: Litio; Ni: Niquel; Pb: Plomo; PM: Leche materna prematura; Pt: Platino; Rb: Rubidio; Sb: Antimonio; Sn; Estaño; Sr: Estroncio; Ti: Titanio; Tl: Talio; TM: Leche materna madura; U: Uranio; V: Vanadio.

Al analizar los oligoelementos tóxicos, se encuentra un aumento significativo en los niveles de Al, Hg, Ni, Sb, Sn, Sr, U, y V en la leche de fórmula de inicio en comparación con la leche madura ($p \leq 0,001$). Encontramos cambios significativos en estos mismos oligoelementos, excepto para el Hg, el Ni y el Sr entre la fórmula hidrolizada y la leche materna madura.

Solo la concentración de Rb disminuyó significativamente ($p \leq 0,006$) en las leches de fórmula (la FI tienen valores menores en un 56%; y la FP en un 54%) en comparación con la LM.

Las leches de fórmula para prematuros presentan concentraciones significativas más altas de Al, Ni, Sn, U, y V ($p \leq 0,001$) y menores para el Rb ($p=0,006$) en comparación con la leche materna prematura.

4.5 CORRELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE LOS MINERALES Y OLIGOELEMENTOS EN LA LECHE MATERNA MADURA CON CARACTERÍSTICAS MATERNAS DE EDAD Y SALUD GESTACIONAL Y EL PESO DEL RN.

En las tablas 17, 18 y 19 se muestra la relación establecida entre las características de la madre recogida en los cuestionarios y los niveles de los oligoelementos en la leche materna. Tras realizar un análisis multivariante con modelos de regresión lineal se encuentran los siguientes resultados.

Tabla 17. Correlación entre las concentraciones de minerales en leche materna madura con las características maternas de edad, de salud gestacional y peso del RN.

Elemento (mg/dL)	Edad materna		Ganancia ponderal excesiva embarazo		Embarazo múltiple		Peso del RN	
	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>
Ca	0,03	>0,999	-0,06	>0,999	0,01	>0,999	0,20	<0,001
K	0,07	>0,999	-0,04	>0,999	0,01	>0,999	0,02	>0,999
Mg	-0,02	>0,999	-0,12	>0,999	-0,03	>0,999	0,19	0,001
Na	0,008	>0,999	0,11	0,049	-0,10	>0,999	0,23	<0,001
P	-0,08	>0,999	-0,07	>0,999	0,02	0,412	0,10	>0,999

Ca: Calcio; Coef: Coeficiente; K: Potasio; Mg: Magnesio; Na: Sodio; P: Fósforo; RN: Recién nacido.

En cuanto a los niveles de los minerales, se observó una correlación positiva entre los niveles de Na y la ganancia excesiva de peso durante el embarazo ($p < 0,050$); y los niveles de Ca, Na y Mg con el peso del recién nacido ($p \leq 0,001$).

No encontramos ninguna relación significativa con la edad materna ni con el embarazo múltiple.

Tabla 18. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos esenciales en leche materna madura con las características maternas de edad y salud gestacional y el peso del RN.

Elemento (µg/L)	Edad materna		Ganancia ponderal excesiva embarazo		Embarazo múltiple		Peso del RN	
	Coef	p	Coef	p	Coef	p	Coef	p
Co	0,004	0,951	-0,01	>0,999	0,11	0,043	0,17	0,002
Cr	-0,008	>0,999	-0,07	>0,999	0,03	>0,999	0,21	<0,001
Cu	0,014	>0,999	-0,06	>0,999	-0,01	>0,999	-0,01	>0,999
Fe	0,006	>0,999	0,11	0,049	-0,05	>0,999	-0,08	>0,999
I	0,03	>0,999	0,11	0,042	0,13	0,026	0,22	<0,001
Mn	0,03	>0,999	-0,16	0,749	0,05	>0,999	-0,03	>0,999
Mo	-0,07	0,813	0,07	0,024	0,14	0,019	0,17	0,002
Se	0,08	>0,999	0,18	0,002	-0,08	>0,999	0,28	<0,001
Zn	0,06	>0,999	-0,17	>0,999	0,06	0,965	0,30	<0,001

Co: Cobalto; Coef: Coeficiente; Cr: Cromo; Cu: Cobre; Fe: Hierro; I: Yodo; Mn: Manganeso; Mo: Molibdeno; RN: Recién nacido; Se: Selenio; Zn: Zinc.

Al valorar los oligoelementos esenciales encontramos una relación significativa con la ganancia excesiva de peso durante el embarazo en relación con los niveles de Fe ($p < 0,050$), I ($p = 0,042$), Mo ($p = 0,024$) y Se ($p = 0,002$) de leche madura. También hubo una correlación positiva significativa entre las madres con embarazo múltiple y los niveles de Co ($p = 0,043$), I ($p = 0,026$) y Mo ($p = 0,019$). El peso del recién nacido tiene en nuestro estudio una correlación significativa con los niveles de Co ($p = 0,002$), Cr ($p < 0,001$), I ($p < 0,001$), Mo ($p = 0,002$), Se ($p < 0,001$) y Zn ($p < 0,001$). No hallamos ninguna correlación significativa con la edad materna en cuanto al contenido de oligoelementos esenciales en la leche.

La leche de las mujeres que han tenido partos múltiples tiene valores significativos más elevados de Co ($p = 0,043$) I ($p = 0,26$) y Mo ($p = 0,19$).

Al relacionar las concentraciones de los oligoelementos de la leche materna madura con el peso del RN al nacimiento observamos una relación negativa en los 9 elementos esenciales. Esto es que a mayores concentraciones de oligoelementos en la leche madura menor ha sido

el peso del neonato en el momento del nacimiento, siendo estas diferencias significativas para el Co ($p=0,002$), el Cr ($p<0,001$), el I ($p<0,001$), el Mo ($p=0,002$), el Se ($p<0,001$) y el Zn ($p<0,001$).

Tabla 19. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos tóxicos en leche materna madura con las características maternas de edad y salud gestacional y el peso del RN.

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	Edad materna		Ganancia ponderal excesiva embarazo		Embarazo múltiple		Peso del RN	
	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>
Al	-0,04	>0,999	0,008	0,049	-0,07	>0,999	0,09	>0,999
As	-0,10	>0,999	0,05	>0,999	-0,02	>0,999	-0,24	<0,001
Ba	-0,11	>0,999	0,11	0,043	-0,05	>0,999	-0,04	>0,999
Cd	-0,09	>0,999	0,10	>0,999	-0,17	0,003	-0,10	>0,999
Cs	0,014	0,945	0,15	>0,999	-0,12	0,041	-0,34	<0,001
Ga	-0,02	0,711	0,09	0,193	-0,009	>0,999	-0,14	0,016
Hg	0,007	>0,999	0,12	0,032	-0,14	0,015	-0,18	0,001
Li	-0,08	>0,999	0,09	>0,999	-0,10	0,982	-0,08	>0,999
Ni	0,07	>0,999	0,04	>0,999	0,05	>0,999	0,04	>0,999
Pb	-0,07	>0,999	0,04	>0,999	0,09	>0,999	-0,45	<0,001
Pt	-0,09	>0,999	0,07	>0,999	-0,11	0,049	0,03	>0,999
Rb	0,07	0,604	0,01	>0,999	0,12	0,031	-0,07	>0,999
Sb	0,02	>0,999	0,002	>0,999	-0,004	>0,999	0,16	0,006
Sn	-0,06	>0,999	0,005	>0,999	0,07	>0,999	0,17	0,004
Sr	0,05	>0,999	0,08	0,027	-0,10	0,846	-0,20	0,001
Ti	-0,008	>0,999	0,06	>0,999	-0,01	>0,999	-0,13	0,029
Tl	0,05	>0,999	0,15	0,034	-0,01	>0,999	-0,26	<0,001
U	0,01	0,515	0,01	>0,999	0,03	>0,999	-0,10	>0,999
V	-0,004	>0,999	0,03	>0,999	-0,13	0,025	-0,27	<0,001

Ag: Plata; Al: Aluminio; As: Arsénico; Ba: Bario; Be: Berilio; Cd: Cadmio; Coef: Coeficiente; Cs: Cesio; Ga: Galio; Hg: Mercurio; Li: Litio; Ni: Niquel; Pb: Plomo; Pt: Platino; Rb: Rubidio; RN: Recién nacido; Sb: Antimonio; Sn: Estaño; Sr: Estroncio; Ti: Titanio; Tl: Talio; U: Uranio; V: Vanadio.

Observamos una correlación significativa entre la ganancia excesiva de peso durante el embarazo y las concentraciones de los oligoelementos tóxicos Al, Ba, Hg, Sr y Tl en la leche materna madura ($p < 0,05$). También hubo una correlación positiva significativa entre las madres con embarazo múltiple y los niveles de Cd, Cs, Hg, Pt, y V en la leche materna ($p < 0,05$). En cuanto al peso al nacer, se detecta una correlación significativa negativa con los niveles de As, Cs, Ga, Hg, Pb, Sr, Ti, Tl y V ($p \leq 0,016$). La edad de la madre no parece influir de forma significativa sobre las concentraciones de los elementos tóxicos en su leche, aunque a mayor edad observamos que aparece una ligera correlación positiva con las concentraciones de Cs, Hg, Ni, Rb, Sb, Sr y de U. Los demás presentan ligera tendencia a tener concentraciones menores.

4.6. CORRELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS EN LM Y EL ESTILO DE VIDA MATERNO

En las tablas 20, 21 y 22 se muestra la relación establecida entre características de la salud gestacional, del estilo de vida y los niveles de oligoelementos en la leche materna.

Tabla 20. Correlación entre las concentraciones de minerales en leche materna con la salud gestacional y el estilo de vida materno.

Elemento (mg/dL)	HT Gestacional		DG materna		Residencia urbana		Agua de pozo		Fumadoras	
	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>
Ca	5,257	0,024	0,06	>0,999	0,01	>0,999	0,016	>0,999	0,429	>0,999
K	0,188	>0,999	0,04	>0,999	0,01	>0,999	0,186	>0,999	0	>0,999
Mg	0,776	>0,999	0,12	>0,999	0,03	>0,999	2,524	>0,999	0,921	>0,999
Na	11,397	0,001	0,11	>0,999	0,10	>0,999	6,133	0,015	0,314	>0,999
P	0,669	0,937	0,07	>0,999	0,02	>0,999	1,13	0,083	0,55	>0,999

Ca: Calcio; Coef: Coeficiente; DG: Diabetes gestacional; HT: Hipertensión; K: Potasio; Mg: Magnesio; Na: Sodio; P: Fósforo.

Se observa que la concentración de Ca y Na revela una correlación significativa con la hipertensión gestacional ($p \leq 0,024$), en cambio no hemos encontramos ninguna relación con la diabetes gestacional materna, con el lugar de residencia ni con el hábito tabáquico. Solo los niveles de Na se correlaciona con la ingesta de agua de pozo ($p=0,015$).

Tabla 21. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos esenciales en leche materna con la salud gestacional y el estilo de vida materno

Elemento ($\mu\text{g/L}$)	HT Gestacional		DG materna		Residencia urbana		Agua de pozo		Fumadoras	
	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>	Coef	<i>p</i>
Co	0,015	>0,999	0,57	>0,999	0,43	>0,999	0,57	>0,999	2,43	>0,999
Cr	0,127	>0,999	0,72	>0,999	0,25	>0,999	1,72	>0,999	0	>0,999
Cu	0,475	>0,999	0,24	>0,999	0,05	>0,999	4,24	0,041	0,05	>0,999
Fe	3,035	>0,999	0,8	>0,999	0,06	>0,999	5,8	0,017	0,06	>0,999
I	1,906	0,063	0,50	>0,999	0,78	>0,999	1,50	>0,999	0,78	>0,999
Mn	0,00	>0,999	0,81	>0,999	0,27	>0,999	1,81	>0,999	0,27	>0,999
Mo	0,008	>0,999	0,64	>0,999	0,22	>0,999	2,64	>0,999	0,22	>0,999
Se	-0,01	0,049	0,58	>0,999	0,61	>0,999	1,58	0,058	0,61	0,493
Zn	2,183	>0,999	0,65	0,974	0,21	>0,999	1,65	>0,999	0,21	>0,999

Co: Cobalto; Coef: Coeficiente; Cr: Cromo; Cu: Cobre; DG: Diabetes gestacional; Fe: Hierro; HT: Hipertensión; I: Yodo; Mn: Manganeso; Mo: Molibdeno; Se: Selenio; Zn: Zinc.

En los oligoelementos esenciales solo la disminución de la concentración de Se está en relación con la hipertensión gestacional ($p < 0,050$), y no hay una correlación significativa de ningún elemento con la diabetes gestacional, con el lugar de residencia ni con el tabaquismo de la madre. Sí es especialmente llamativo la relación significativa de los niveles de Cu y Fe con el consumo de agua de pozo ($p \leq 0,041$).

Tabla 22. Correlación entre las concentraciones de oligoelementos tóxicos en leche materna con la salud gestacional y el estilo de vida materno.

Elemento (µg/L)	HT Gestacional		DG materna		Residencia urbana		Agua de pozo		Fumadoras	
	Coef	p	Coef	p	Coef	p	Coef	p	Coef	p
Ag	0	>0,999	0	>0,999	0	>0,999	0	>0,999	0	>0,999
Al	0,2	>0,999	0,041	>0,999	0,123	>0,999	0,041	>0,999	0,123	>0,999
As	0,564	0,394	0,101	>0,999	3,558	0,013	0,101	>0,294	0,558	>0,999
Ba	0,804	>0,999	0	>0,999	0,96	>0,999	0	>0,999	7,96	0,050
Be	0,00	>0,999	0	>0,999	0	>0,999	0	>0,999	0	>0,999
Cd	0,029	0,837	0,862	>0,999	0,425	>0,999	0,862	>0,999	0,425	>0,999
Cs	0,502	>0,999	0,71	>0,999	0,51	>0,999	0,71	>0,999	0,51	>0,999
Ga	3,75	0,049	0,24	0,937	0,025	>0,999	2,24	>0,999	0,025	>0,999
Hg	0,43	>0,999	0,085	>0,999	0,42	>0,999	0,085	>0,999	2,42	0,094
Li	0,22	>0,999	0,059	>0,999	0,83	>0,999	0,059	>0,999	1,83	>0,999
Ni	0,021	>0,999	0,276	>0,999	0,126	>0,999	1,276	>0,999	0,126	>0,999
Pb	1,395	>0,999	0,674	>0,999	0,61	0,075	3,674	0,046	9,61	0,024
Pt	0,198	>0,999	3,712	0,049	0,331	>0,999	1,712	>0,999	0,331	>0,999
Rb	0,025	>0,999	0,652	>0,999	0,63	>0,999	1,652	>0,999	0,63	>0,999
Sb	0,178	>0,999	0,37	>0,999	0,453	>0,999	1,37	0,057	0,453	>0,999
Sn	1,224	0,082	0,995	>0,999	0,188	>0,999	1,995	>0,999	0,188	>0,999
Sr	5,126	0,021	0,595	0,836	0,5	>0,999	2,595	>0,999	0,5	>0,999
Ti	5,27	0,025	5,997	0,024	0,52	>0,999	2,997	0,041	0,52	>0,999
Tl	0,017	>0,999	0,601	>0,999	0,653	>0,999	2,601	>0,999	0,653	0,827
U	5,111	>0,999	0,477	>0,999	0,949	>0,999	0,477	>0,999	0,949	>0,999
V	7,865	0,002	0,358	>0,999	0,699	0,628	1,358	>0,999	0,699	>0,999

Ag: Plata; Al: Aluminio; As: Arsénico; Ba: Bario; Be: Berilio; Cd: Cadmio; Cs: Cesio; DG: Diabetes gestacional; Coef: Coeficiente de correlación; Ga: Galio; Hg: Mercurio; HT: Hipertensión; Li: Litio; Ni: Níquel; Pb: Plomo; Pt: Platino; Rb: Rubidio; Sb: Antimonio; Sn: Estaño; Sr: Estroncio; Ti: Titanio; Tl: Talio; U: Uranio; V: Vanadio.

Las concentraciones de Ga, Sr, Ti, y V en la leche materna mostraron una correlación significativa con la hipertensión gestacional ($p < 0,050$). Mientras tanto, solo los niveles de Pt y Ti en la leche materna se correlacionan significativamente con la diabetes gestacional ($p < 0,050$).

El estudio de los cuestionarios y los resultados del análisis de los elementos reveló una correlación positiva significativa entre la concentración de As en las madres que viven en entornos urbanos en comparación con las madres que viven en entornos rurales ($p 0,013$). Un examen más detenido para investigar si la correlación estadística entre el contenido de oligoelementos de la leche materna y el consumo de agua de pozo también se aplicó y reveló una correlación positiva significativa en los niveles de Pb y Ti ($p \leq 0,046$). Por último, encontramos una correlación positiva significativa entre la concentración de Pb en la leche materna y el consumo de tabaco de la madre, lo que sugiere que los niveles crecientes de Pb fueron influenciados por el comportamiento de fumar de la madre ($p 0,024$).

4.7 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE OLIGOELEMENTOS OBJETIVADOS EN LA LECHE MATERNA CON LOS VALORES INDICADOS POR LA AAP:

En las tablas 23, 24 y 25 se muestra la comparación realizada con los niveles obtenidos en nuestro estudio y los valores establecidas por la AAP para lactancia materna madura (104). Los valores recomendados hacen referencia a la LM madura a término, pero también los hemos tomado como referencia para el resto de etapas de la LM a término (calostro e intermedia) y para la LM pretérmino.

Tabla 23. Comparación de los minerales en leche materna en relación con los valores recomendados por AAP

Elemento (mg/L)	Tipo leche	Rango AAP	Rango estudio		% de LM por debajo del límite inferior	% de LM por encima del límite superior	p
			Inferior	Superior			
Ca	TC	200-300	233.43	257.29	0	0	>0,999
	TI		250.92	290.27	0	0	
	TM		278.09	303.99	0	10	
	PM		280.36	310.17	0	10	
K	TC	400-550	308.14	458.78	40	0	>0,999
	TI		332.84	467.28	30	0	
	TM		405.31	462.89	0	0	
	PM		352.92	494.38	20	0	
Mg	TC	35-110	28.19	41.62	60	0	>0,999
	TI		34.12	37.84	40	0	
	TM		36.21	40.17	20	0	
	PM		36.16	38.56	30	0	
Na	TC	60-100	56,06	231.61	10	80	<0,001
	TI		56,77	145.68	10	60	
	TM		56,82	139.68	10	50	
	PM		59,71	138.30	0	50	
P	TC	120-140	130.28	139.62	0	0	>0,999
	TI		122.85	136.39	0	0	
	TM		121.67	135.10	0	0	
	PM		119.10	131.51	10	0	

AAP: Academia Americana de Pediatría; Ca: Calcio; K: Potasio; Mg: Magnesio; Na: Sodio; P: Fósforo; PM: Leche prematura; TC: Calostro a término; TI: Leche intermedia a término; TM: Leche madura a término.

Observamos que únicamente los valores de Na presentan diferencias significativas con los valores recomendados, hasta un 80% de la concentración en la etapa calostro tienen valores por encima del rango ($p < 0,001$).

Tabla 24. Comparación de los oligoelementos esenciales en leche materna en relación con los valores recomendados por la AAP

Elemento (µg/L)	Tipo leche	Rango AAP	Rango estudio		% de LM por debajo del límite inferior	% de LM por encima del límite superior	p
			Inferior	Superior			
Co	TC	0-0,14	0.049	0.065	0	0	>0,999
	TI		0.037	0.067	0	0	
	TM		0.039	0.050	0	0	
	PM		0.049	0.056	0	0	
Cr	TC	0,6-0,8	3.38	3.85	0	100	<0,001
	TI		3.5	3.5	0	100	
	TM		3.5	3.5	0	100	
	PM		3.01	3.71	0	100	
Cu	TC	200- 400	211.20	289.03	0	0	>0,999
	TI		236.02	302.29	0	0	
	TM		290.21	389.86	0	0	
	PM		251.03	279.63	0	0	
Fe	TC	50- 900	162.82	211.32	0	0	>0,999
	TI		166.09	204.46	0	0	
	TM		157.97	198.96	0	0	
	PM		119.71	190.15	0	0	
I	TC	40-250	94.96	122.3	0	0	>0,999
	TI		109.37	134.52	0	0	
	TM		106.84	149.12	0	0	
	PM		84.57	105.79	0	0	
Mn	TC	1-3	1.67	3.54	0	10	>0,999
	TI		1.56	1.93	0	0	
	TM		1.44	1.92	0	0	
	PM		1.80	2.18	0	0	
Mo	TC	0,2-0,7	0,10	2.29	10	40	>0,999
	TI		0,10	1.76	10	30	
	TM		0,10	1.25	10	30	
	PM		0,10	0.94	10	20	
Se	TC	10-30	6.90	20.73	50	0	<0,001
	TI		5.44	20.38	50	0	
	TM		5.28	16.47	60	0	
	PM		4.22	15.72	80	0	
Zn	TC	1000- 3000	762.22	1248.20	10	0	>0,999
	TI		797.25	1285.57	10	0	
	TM		1004.30	1471.22	0	0	
	PM		316.06	1401.85	30	0	

AAP: Academia Americana de Pediatría; Co: Cobalto; Cr: Cromo; Cu: Cobre; Fe: Hierro; I: Yodo; Mn: Manganeso; Mo: Molibdeno; PM: Leche prematura; Se: Selenio; TC: Calostro a término; TI: Leche intermedia a término; TM: Leche madura a término; Zn: Zinc.

Observamos que los valores de Cr están muy por encima de los valores máximos recomendados en todas las leches y en todas las etapas de la LM ($p < 0,001$).

Encontramos valores alterados en el caso del Se, con más del 50% de los valores por debajo de los niveles recomendados en todas sus etapas, destacando especialmente la leche de prematuro, con un 80% de los valores inferiores al rango ($p < 0,001$).

Tabla 25. Comparación de 14 oligoelementos tóxicos en leche materna en relación con los valores recomendados por la AAP

Elemento (µg/L)	Tipo leche	Rango AAP	Rango estudio		% de LM por debajo del límite inferior	% de LM por encima del límite superior	p
			Inferior	Superior			
Al	TC	10-50	7.79	37,25	10	0	>0,999
	TI		6.35	20,95	20	0	
	TM		7.02	11,41	10	0	
	PM		7.04	31,90	10	0	
Ag	TC	0-0,7	0.10	0.10	0	0	>0,999
	TI		0.10	0.10	0	0	
	TM		0.10	0.10	0	0	
	PM		0.10	0.10	0	0	
As	TC	0-6	0.52	1.34	0	0	>0,999
	TI		0.70	1.51	0	0	
	TM		0.93	1.82	0	0	
	PM		1.05	1.29	0	0	
Ba	TC	0-20	1.98	6.05	0	0	>0,999
	TI		2.51	5.02	0	0	
	TM		2.65	3.85	0	0	
	PM		2.24	2.67	0	0	
Be	TC	0 -0,1	0.10	0.10	0	0	>0,999
	TI		0.10	0.10	0	0	
	TM		0.10	0.10	0	0	
	PM		0.10	0.10	0	0	
Cd	TC	0 - 1	0.16	0.20	0	0	>0,999
	TI		0.14	0.17	0	0	
	TM		0.10	0.20	0	0	
	PM		0.35	0.54	0	0	
Cs	TC	0-5	2.84	8.12	0	40	<0,001
	TI		3.01	5.33	0	10	
	TM		2.71	5.55	0	10	
	PM		2.17	10.17	0	70	
Ga	TC	0 - 5	1.74	1.94	0	0	>0,999
	TI		1.77	2.08	0	0	
	TM		1.95	2.20	0	0	
	PM		2.10	2.33	0	0	

Resultados

Elemento (µg/L)	Tipo leche	Rango AAP	Rango estudio		% de LM por debajo del límite inferior	% de LM por encima del límite superior	p
			Inferior	Superior			
Hg	TC	0- 0,5	0.29	0.39	0	0	>0,999
	TI		0.29	0.35	0	0	
	TM		0.29	0.33	0	0	
	PM		0.45	0.18	0	0	
Ni	TC	0-10	1.80	1.80	0	0	>0,999
	TI		1.88	2.48	0	0	
	TM		1.69	3.00	0	0	
	PM		1.72	2.06	0	0	
Pb	TC	0-2	0.14	0.88	0	0	>0,999
	TI		0.22	0.43	0	0	
	TM		0.25	0.36	0	0	
	PM		0.09	0.10	0	0	
Pt	TC	0- 0,10	0.03	0.16	0	10	<0,001
	TI		0.04	0.06	0	0	
	TM		0.04	0.06	0	0	
	PM		0.04	0.04	0	0	
Rb	TC	300-1000	392.51	462.31	0	0	0,836
	TI		416.22	480.51	0	0	
	TM		480.4	558.94	0	0	
	PM		472.95	511.66	0	0	
Sb	TC	0-0,10	0.05	0.08	0	0	>0,999
	TI		0.06	0.07	0	0	
	TM		0.05	0.07	0	0	
	PM		0.06	0.13	0	10	
Sn	TC	0-0,10	0.07	0.11	0	10	>0,999
	TI		0.06	0.07	0	0	
	TM		0.07	0.07	0	0	
	PM		0.07	0.07	0	0	
Sr	TC	30 - 50	40.34	71.50	0	50	<0,001
	TI		34.33	63.03	0	30	
	TM		33.40	39.32	0	0	
	PM		42.78	118.95	0	70	
Ti	TC	10-50	34.68	38.87	0	0	>0,999
	TI		34.02	40.48	0	0	
	TM		39.05	42.75	0	0	
	PM		45.06	54.58	0	10	
U	TC	0-0,03	0.004	0.004	0	0	>0,999
	TI		0.004	0.004	0	0	
	TM		0.004	0.004	0	0	
	PM		0.004	0.004	0	0	
V	TC	0 - 0,10	0.05	0.05	0	0	>0,999
	TI		0.04	0.05	0	0	
	TM		0.05	0.05	0	0	
	PM		0.05	0.06	0	0	

Ag: Plata; Al: Aluminio; AAP: Academia Americana de Pediatría; As: Arsénico; Ba: Bario; Be: Berilio; Cd: Cadmio; Cs: Cesio; Ga: Galio; Hg: Mercurio; Ni: Níquel; PM: Leche prematura; Pb: Plomo; Pt: Platino; Rb: Rubidio; Sb: Antimonio; Sn: Estaño; Sr: Estroncio; TC: Calostro a término; TI: Leche intermedia a término; Ti: Titanio; TM: Leche madura a término; U: Uranio; V: Vanadio.

Al analizar los valores de las concentraciones de oligoelementos tóxicos en la LM, observamos unos niveles superiores a los recomendados en el caso del Cs y el Sr en las PM, con el 70% de los valores por encima del rango ($p < 0,001$).

4.8 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE DE FÓRMULA CON LAS RECOMENDACIONES DE LA ESPGHAN:

En la tabla 26 se muestra la comparación realizada con los niveles obtenidos en nuestro estudio y las recomendaciones establecidas por la ESPGHAN para las leches de fórmula (58).

Tabla 26. Comparación de los niveles de minerales y de oligoelementos esenciales en las leches de fórmula con las recomendaciones de la ESPGHAN

Elemento	Tipo leche	Rango ESPGHAN	Rango estudio		% de LF por debajo del límite inferior	% de LF por encima del límite superior	p
			Inferior	Superior			
Minerales (mg/L)							
Ca	FI	325-910	345.14	494.72	0	0	>0,999
	FC		391.96	443.28	0	0	
	FH		322.49	537.90	10	0	
	FP		393	626	0	0	
K	FI	390-1040	448.92	497.21	0	0	>0,999
	FC		436.12	451.62	0	0	
	FH		404.43	641.16	0	0	
	FP		432.28	662.71	0	0	
Mg	FI	32- 100	46.46	54.46	0	0	>0,999
	FC		40.36	65.88	0	0	
	FH		43.64	75.95	0	0	
	FP		62	73	0	0	
Na	FI	130- 390	131.72	162.40	0	0	>0,999
	FC		150.49	171.75	0	0	
	FH		113.57	267.72	10	0	
	FP		180	257	0	0	
P	FI	160- 585	253.67	281.59	0	0	>0,999
	FC		261.15	288.77	0	0	
	FH		235.32	367	0	0	
	FP		271	381.59	0	0	

Elemento	Tipo leche	Rango ESPGHAN	Rango estudio		% de LF por debajo del límite inferior	% de LF por encima del límite superior	p
			Inferior	Superior			
Oligoelementos esenciales (µg/L)							
Cu	FI	225-520	337.25	428.81	0	0	>0,999
	FC		297.81	403.68	0	0	
	FH		314.82	479.84	0	0	
	FP		206.96	634.91	10	20	
Fe	FI	2000-8700	5369.12	6769.54	0	0	>0,999
	FC		8505.13	9346.36	0	30	
	FH		4939.29	9621.10	0	30	
	FP		2793.26	9814.03	0	30	
I	FI	65-325	114.05	152.00	0	0	>0,999
	FC		141.07	171.05	0	0	
	FH		131.96	148.17	0	0	
	FP		149.24	177.28	0	0	
Mn	FI	6-325	53.58	133.11	0	0	>0,999
	FC		34.27	80.43	0	0	
	FH		37.90	341.22	0	10	
	FP		31.37	79.02	0	0	
Se	FI	6- 60	15.95	21.21	0	0	>0,999
	FC		14.29	20.63	0	0	
	FH		16.10	25.94	0	0	
	FP		17.31	22.18	0	0	
Zn	FI	3250 - 9750	4155.71	5139.35	0	0	0,872
	FC		4015.30	5805.44	0	0	
	FH		2970.98	7120.61	20	0	
	FP		6179	7237	0	0	

Ca: Calcio; Cu: Cobre; ESPGHAN: European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition; FC: Fórmula de continuación; Fe: Hierro; FH: Fórmula hidrolizada; FI: Fórmula de inicio; FP: Fórmula de prematuros; I: Iodo; K: Potasio; Mg: Magnesio; Mn: Manganeso; Na: Sodio; P: Fósforo; Se: Selenio; Zn: Zinc.

Al comparar los resultados obtenidos en nuestro estudio, con los valores recomendados por la ESPGHAN, observamos que no hay diferencias significativas en ninguno de los elementos estudiados.

4.9 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE OLIGOELEMENTOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS DE LECHE DE FÓRMULA CON LOS DATOS DE LA FICHA TÉCNICA:

En la tabla 27 se muestra la comparación realizada con los niveles obtenidos en nuestro estudio y los valores descritos en la ficha técnica de cada producto estudiado.

Tabla 27. Comparación de los niveles de oligoelementos en leche de fórmula con información de la ficha técnica

Elemento	Tipo leche	Rango Ficha Técnica	Rango estudio		% de LF por debajo del límite inferior	% de LF por encima del límite superior	p
			Inferior	Superior			
Minerales (mg/L)							
Ca	FI	338-585	345.14	494.72	0	0	>0,999
	FC	405-650	391.96	443.28	10	0	
	FH	400-620	322.49	537.90	20	0	
	FP	500-620	393	626	30	10	
K	FI	440-569	448.92	497.21	0	0	>0,999
	FC	440-554	436.12	451.62	10	0	
	FH	440-570	404.43	641.16	20	20	
	FP	500-590	432.28	662.71	30	30	
Mg	FI	31-51	46.46	54.46	0	20	>0,999
	FC	33-60	40.36	65.88	0	30	
	FH	40-60	43.64	75.95	0	20	
	FP	40-70	62	73	0	10	
Na	FI	120-184	131.72	162.40	0	0	>0,999
	FC	159-184	150.49	171.75	10	0	
	FH	180-230	113.57	267.72	20	10	
	FP	215-254	180	257	20	10	
P	FI	200-369	253.67	281.59	0	0	>0,999
	FC	243-327	261.15	288.77	0	0	
	FH	230-341	235.32	367	0	20	
	FP	300-365	271	381.59	10	20	
Oligoelementos esenciales (µg/L)							
Cu	FI	300-404	337.25	428.81	0	20	>0,999
	FC	300-400	297.81	403.68	10	10	
	FH	305-410	314.82	479.84	0	30	
	FP	400-485	206.96	634.91	40	40	
Fe	FI	3000-6200	5369.12	6769.54	0	10	>0,999
	FC	7000-10000	8505.13	9346.36	0	0	
	FH	3500-10000	4939.29	9621.10	0	0	
	FP	5300-7000	2793.26	9814.03	20	40	
I	FI	89-160	114.05	152.00	0	0	>0,999
	FC	115-166	141.07	171.05	0	20	
	FH	89-145	131.96	148.17	0	20	
	FP	89-180	149.24	177.28	0	0	
Se	FI	11-21	15.95	21.21	0	10	0,823
	FC	11-24	14.29	20.63	0	0	
	FH	7-21	16.10	25.94	0	20	
	FP	7-18	15.31	22.18	0	40	
Zn	FI	3100-7300	4155.71	5139.35	0	0	>0,999
	FC	3500-8000	4015.30	5805.44	0	0	
	FH	3400-7600	2970.98	7120.61	10	0	
	FP	4000-8800	6179	7237	0	0	

Ca: Calcio; Cu: Cobre; FC: Fórmula de continuación; Fe: Hierro; FH: Fórmula hidrolizada; FI: Fórmula de inicio; FP: Fórmula de prematuros; I: Iodo; K: Potasio; Na: Sodio; P: Fósforo; Se: Selenio; Zn: Zinc.

Al comparar los resultados obtenidos en nuestro estudio, con los valores aportados por la industria en la ficha técnica de cada producto, observamos que no hay diferencias significativas en ninguno de los elementos analizados. Ninguna presenta valores inferiores a los indicados.





5. DISCUSIÓN

En este estudio se realiza una evaluación de la concentración de los minerales, oligoelementos y tóxicos en la leche materna en sus diferentes etapas, desde el calostro y leche intermedia hasta la leche madura con 70 muestras de cada período, incluyendo también la leche madura de 100 madres con parto prematuro, y valorándolos en el contexto de las características maternas y medioambientales. Además, se ha realizado el mismo estudio en 30 leches de fórmula infantiles para el primer año de vida disponibles en el mercado español.

Es el primer estudio donde se determinan los niveles de Tl tanto en leche materna como en leche de fórmula; los niveles de Sr en leche materna prematura y los niveles de Ga, Li y U en fórmulas infantiles.

Debido a la importancia de una ingesta adecuada de micronutrientes en las primeras etapas de la vida y a los cambios evolutivos en las dietas y el medio ambiente de cada población, el estudio de los oligoelementos en la alimentación infantil sigue siendo relevante para la salud pública. Los déficits de micronutrientes en LM o LF durante la vida temprana afectan negativamente la salud individual y comunitaria, y se asocian tanto con infecciones a corto plazo como con tasas más altas de enfermedades a largo plazo. Sin embargo, cantidades excesivas de estos elementos también pueden ser perjudiciales (13, 15). Además de los elementos esenciales, la leche también puede transferir metales potencialmente tóxicos; estos metales se han detectado en la leche en todo el mundo, aunque las concentraciones pueden variar ampliamente según las exposiciones ambientales, así como la dieta o hábitos tóxicos como el tabaco (17). Los lactantes amamantados son particularmente vulnerables y sensibles a sus efectos tóxicos debido a su rápido crecimiento, a la

inmadurez y susceptibilidad de sus órganos y en especial a la susceptibilidad de su sistema nervioso (22, 148) y pueden contribuir a alteraciones del desarrollo neurológico, de la función inmunológica o respiratoria durante el primer año de vida (19).

Existen varios estudios sobre la composición de la LM, y en concreto sobre la determinación de los oligoelementos, así como en leches de fórmula (1, 21-22, 59-61). Hay que tener en cuenta que la composición de la LM está influenciada por muchos factores y varía entre diferentes mujeres, con la dieta materna, el área de residencia y el período de lactancia, o en función de la edad gestacional en el momento del parto. Por todo ello, hemos considerado la necesidad de realizar un estudio simultáneo de los niveles de todos los oligoelementos tanto en leche materna en sus diferentes etapas, leche de madres prematuras y leches de fórmula infantil, teniendo en cuenta el contexto medioambiental y las recomendaciones de los estándares internacionales, para así poder evaluar la adecuada composición de las leches utilizadas para alimentar a los lactantes de nuestra área sanitaria en el primer año de vida.

5.1 MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE MATERNA

En el presente estudio se observa una tendencia a mayor concentración de Ca desde el calostro a la leche madura ($p=0,006$), en concordancia con los hallazgos de Prentice y Barclay (195). No obstante, el contenido de Ca en la leche materna examinada según los estudios de 169 autores varió entre 84 y 462 mg/L, con una media de 252 mg/L (78), por lo que las concentraciones objetivadas en nuestro estudio, con una media de $291,04 \pm 53$ mg/L en leche materna madura, son concordantes con los hallazgos descritos en la literatura. Además, de forma similar a Atkinson et al. (196) y Schanler (197) se observó una concentración algo mayor de Ca en la leche prematura, con una media de $298,76 \pm 57$ mg/dL, en comparación con la leche a término. El Ca es un importante nutriente en la LM que contribuye al desarrollo de los huesos, la contracción muscular, la transmisión de los impulsos nerviosos y la coagulación de la sangre; es esencial para el

crecimiento y la prevención del raquitismo en los lactantes (198), una patología de gran importancia en los niños nacidos prematuramente, por lo que observar niveles mayores en la leche que reciben estos niños nos ayudaría a su prevención. Además, la relación Ca: P es importante para el crecimiento y el desarrollo óseo durante la infancia. En la actualidad se considera óptima una relación molar de Ca: P entre 1:1 y 2:1; el ratio Ca: P bajo puede afectar negativamente el equilibrio del metabolismo del Ca, y posteriormente puede aumentar el riesgo de fractura ósea y osteoporosis. En la LM, el Ca: P es aproximadamente 2:1 (104), siendo el ratio encontrado en nuestro estudio superior a estos valores en la LM intermedia y madura además de la LM pretérmino, lo que supondría un riesgo aumentado de tener un mal desarrollo óseo en los neonatos y lactantes, riesgo a tener en cuenta especialmente en los RN prematuros donde la osteopenia es frecuente.

En cuanto a los oligoelementos esenciales, se observa como son menores las concentraciones de Cu (p 0,029), Mn (p 0,039), Mo ($p < 0,001$) y Se (p 0,001) a medida que avanza la lactancia, probablemente debido a la disminución del contenido de proteínas que sirven como elementos ligandos, en la leche materna madura respecto al calostro (116, 199), además de presentar una mayor demanda de estos oligoelementos en los primeros días de vida, según la hipótesis de Ohtake y Tamura (200).

La disminución en la concentración de Cu conforme avanza el período de la lactancia es consistente con la mayoría de los resultados publicados por otros autores durante este mismo período de lactancia (61, 93, 94). A pesar de estos niveles más bajos en la leche madura, con una media de $250,11 \pm 163 \mu\text{g/L}$, se ha comprobado que no existe riesgo de deficiencia nutricional de este oligoelemento en el niño durante los primeros 6 meses de lactancia ya que los recién nacidos nacen con reservas hepáticas de cobre suficientes para equilibrar las bajas concentraciones de estos elementos en la leche materna (201). Además, el Cu en la leche materna se caracteriza por una alta biodisponibilidad en comparación con las fórmulas lácteas para lactantes (202), y se puede suponer que los recursos corporales de este oligoelemento son suficientes para los bebés alimentados con

lactancia materna exclusiva. Por otro lado, un bajo contenido de Cu es una condición positiva para las propiedades bacteriostáticas de la leche materna (203). Y debemos tener presente que la leche materna es la única fuente de alimento para un bebé solo durante los primeros 5-6 meses de vida, por lo que una deficiencia de Cu después de los primeros 6 meses de vida quedaría resuelta ya que también se suministra este elemento en otros alimentos.

Situación similar sucede con el Mn ya que, aunque existen síntomas asociados con la deficiencia de Mn, no es posible establecer claramente una relación entre ingestas dietéticas bajas y problemas de salud (104). En los estudios realizados hasta el momento actual, se han descrito niveles de Mn en leche materna entre 1 y 10 $\mu\text{g/L}$, concordantes con los encontrados en nuestro estudio, con una media de $1,68 \pm 1,00 \mu\text{g/L}$ en leche materna madura. Algunos mostraron variabilidad muy baja en las concentraciones de Mn en la leche materna durante el período de lactancia (60); otros, sin embargo, observaron una reducción significativa en el contenido de Mn de la leche durante la lactancia (96).

En cuanto al Mo en la LM madura la concentración es hasta un 70% menor que la de la etapa de calostro. Un estudio colaborativo internacional de la OMS mostró que la mayoría de las muestras de leche materna de Guatemala, Hungría, Nigeria, Suecia y Zaire tenía una concentración de Mo inferior a 5 $\mu\text{g/L}$, al igual que los datos obtenidos en nuestro estudio (media $0,96 \pm 1,16 \mu\text{g/L}$ en leche materna madura), mientras que las muestras de leche de Filipinas mostraron valores más altos de Mo (rango 6,75 a 35,41 $\mu\text{g/L}$) (106). Dado que el arroz y la soja son ricos en Mo, se espera que la ingesta dietética de Mo de los asiáticos que consumen grandes cantidades de productos de arroz y soja sea mayor que la de los occidentales (107). La deficiencia de Mo en la dieta puede asociar riesgos nutricionales, se asocia con problemas de crecimiento, trastornos neurológicos e incluso muerte prematura (204), aunque todos los valores encontrados en la LM de nuestro estudio están por encima de los valores mínimos aconsejados por la AAP (104).

Los síntomas de la deficiencia de Se se han descrito solo en casos extremos, graves y prolongados de privación, y se caracterizan por presentar riesgo de miocardiopatía, disminución del tono muscular, cambios en los apéndices de la piel (adelgazamiento del cabello, opacificación de las uñas) y anemia. En niños se ha descrito la enfermedad de Keshan, una miocardiopatía asociada con la deficiencia de Se (205). En un estudio previo se estudiaron las concentraciones de Se en la LM según la región de residencia de la madre lactante. Se compararon en Venezuela dos regiones ricas en selenio y una región de control. Se observó un aumento significativo de selenio de 42,9 $\mu\text{g/L}$ para la región de control a 56,6 y 112,2 $\mu\text{g/L}$ para las dos regiones seleníferas (110). Otros autores informaron niveles de Se en el primer mes entre 12,7 y 32,1 $\mu\text{g/L}$ (92, 94, 99), que representan en todos los casos niveles superiores a los encontrados en nuestro estudio con una media de $8,87 \pm 2,44$ $\mu\text{g/L}$ en leche materna madura, estando también por debajo de los niveles admitidos por la AAP (104), hecho probablemente influenciado por los bajos niveles de Se en el suelo en nuestro país (206), que varía con el tipo, la textura y el contenido de materia orgánica del suelo y con la lluvia. Ya nuestro grupo había descrito en 1994 niveles de Se en LM entre 4 y 84 $\mu\text{g/L}$, con una media de 11,7 $\mu\text{g/L}$ en LM madura, concentraciones similares a las encontradas en este estudio actualmente (207)

Leche de madres de prematuros

Por otro lado, al comparar la leche materna a término con la prematura encontramos una disminución significativa en la leche prematura de la concentración del Cr ($p=0,036$), Fe ($p=0,016$), I ($p=0,045$), Se ($p<0,001$) y Zn ($p<0,001$).

Los niveles de Cr observados en nuestro estudio (media de $3,5 \pm 0,00$ $\mu\text{g/L}$), incluidos los niveles en leches prematuras ($3,22 \pm 1,04$ $\mu\text{g/L}$), son superiores a los objetivados en un estudio previo de nuestro grupo en 1992 con una media de 1,56 $\mu\text{g/L}$ (208). Hay varios estudios que han publicado las concentraciones de Cr en la leche materna. En un estudio japonés se encontraron valores medios de 6,5 $\mu\text{g/L}$ (86); por otro lado, varios estudios más recientes indican que las cantidades de Cr en la leche materna de la mayoría de las madres estadounidenses es

inferior a 1 $\mu\text{g/L}$ (87). Por lo tanto, a pesar de la disminución significativa de Cr en leches prematuras, la ingesta de Cr en los recién nacidos de nuestra área es superior. La deficiencia de Cr causa intolerancia a la glucosa similar a la diabetes mellitus, niveles elevados de ácidos grasos libres en plasma, cambios en el metabolismo del nitrógeno, pérdida de peso, neuropatía y depresión respiratoria (84).

En cuanto al Fe, la deficiencia de Fe produce anemia, que representa la deficiencia nutricional de elementos esenciales más frecuente y la enfermedad más prevalente en los lactantes, especialmente en recién nacidos prematuros (100). Revisando la literatura se observa que la concentración de Fe en la leche materna es relativamente estable en los primeros meses después del parto, oscilando entre 210 y 270 $\mu\text{g/L}$ (94, 95, 103). Los niveles hallados en nuestro estudio son inferiores (176,51 \pm 94 $\mu\text{g/L}$ en leche madura), aunque sin diferencias significativas entre las 3 etapas de la LM. En LM prematuras sí que encontramos niveles significativamente inferiores (138,43 \pm 83 $\mu\text{g/L}$), por lo que supone un aumento del riesgo de anemia, siendo especialmente importante su prevención en niños prematuros.

Las poblaciones con deficiencias graves de I presentan un alto riesgo de retraso mental y cretinismo (99). Si comparamos los niveles de I encontrados en nuestro estudio (127,98 \pm 88 $\mu\text{g/L}$) con los niveles hallados en otros estudios realizados, se mantienen también con concentraciones entre 40 y 250 $\mu\text{g/L}$ (86, 93, 101), estando además dentro del rango aconsejado por AAP para I en LM (104), por lo que los recién nacidos de nuestra área no debería estar en riesgo de padecer cretinismo, a pesar de la disminución de la concentración en LM prematura.

En cuanto al Se, observamos una disminución significativamente mayor en las leches prematuras (4,97 \pm 3,77 $\mu\text{g/L}$), siendo los niveles más de un 50% menores que los valores de la leche a término, y además comprobamos que hasta en un 80% los valores están por debajo de los admitidos por la AAP (104). Esta concentración reducida de Se podría afectar negativamente a las actividades

funcionales de las selenoproteínas antioxidantes, comprometiendo la protección contra el estrés oxidativo placentario, lo que repercutirá negativamente en el crecimiento fetal. De hecho, la deficiencia de Se ha sido asociada con preeclampsia (209), partos prematuros (210) y bebés pequeños para la edad gestacional (PEG) (211).

En cuanto al Zn, Ustundag et al. también había demostrado que los niveles de Zn en la leche de madres de bebés prematuros eran significativamente más bajos (212), al igual que los hallazgos de nuestro estudio. El papel bioquímico del Zn resulta de su presencia en cientos de sistemas enzimáticos y como estabilizador de la estructura molecular de las subestructuras celulares, y participa en la síntesis y degradación de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (113). El Zn se absorbe principalmente en el duodeno y yeyuno y, durante la digestión, el Zn de la dieta se libera y forma complejos con diferentes ligandos, como aminoácidos, fosfatos, ácidos orgánicos e histidinas. La homeostasis del Zn probablemente se mantiene mediante una combinación de cambios en la absorción fraccionada y la excreción fecal endógena de Zn (114). La deficiencia severa de Zn se asocia con síntomas clínicos como retraso en el crecimiento, retraso en la maduración sexual y esquelética, dermatitis, diarrea, alopecia, falta de apetito, cambios de comportamiento y mayor susceptibilidad a cualquier infección, como resultado del mal funcionamiento del sistema inmunológico (115). Si comparamos los niveles de Zn encontrados en nuestro estudio ($558,95 \pm 716 \mu\text{g/L}$ en LM pretérmino) con los niveles en estudios realizados previamente son similares, con concentraciones que varían de 250 a 3000 $\mu\text{g/L}$ (91, 92, 116), estando además los niveles dentro del rango admitido por AAP en LM (104), por lo que los recién nacidos de nuestra área no deberían estar en riesgo, a pesar de los niveles más bajos en LM prematura.

Coincidiendo con la disminución de los niveles de estos oligoelementos esenciales en leches prematuras, también hemos hallado una disminución significativa de los mismos elementos en neonatos y lactantes con menor peso al nacimiento ($p < 0,002$). Los recién nacidos tienen necesidades ligeramente más altas de estos micronutrientes esenciales debido al rápido crecimiento y desarrollo

posnatal, las pérdidas iatrogénicas y el almacenamiento corporal limitado de estos elementos (213). El parto prematuro interrumpe la transferencia de estos nutrientes por parte de la madre durante el tercer trimestre de gestación, por lo tanto, estos bebés tienen un mayor riesgo de desarrollar deficiencias nutricionales.

5.2 MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE MATERNA Y SU RELACIÓN CON EL CONTEXTO MEDIOAMBIENTAL

Al analizar los oligoelementos minerales y esenciales de la LM con las características maternas no se encontró ninguna relación significativa con la edad materna, pero sí se observó una correlación entre el mayor aumento de peso materno durante el embarazo y niveles más elevados de Na ($p < 0,050$), Fe ($p < 0,050$), I ($p = 0,042$), Mo ($p = 0,024$) y Se ($p = 0,002$). Los estudios de Dumrongwongsiri et al., también mostraron una asociación positiva con los niveles de I en LM (214) con el peso de la madre; sin embargo, no se han descrito previamente relaciones significativas de los elementos Na, Mo y Se con el aumento de peso materno durante el embarazo. Los niveles elevados de I en la LM parecen no tener relevancia clínica con una función tiroidea normal, ya que la glándula tiroidea normal puede adaptarse a una amplia gama de ingesta de I (215). Es importante señalar que el aumento de los niveles de Na en la LM se ha relacionado con una alteración de la lactogénesis y con un alto riesgo de fracaso en el establecimiento de una adecuada lactancia materna (72, 216), por lo que en madres con un aumento excesivo de peso en el embarazo se puede predecir una insuficiencia de la LM.

Por otro lado, el aumento de los niveles de Na y Ca en madres con hipertensión gestacional objetivados en nuestro estudio ($p < 0,024$) podrían explicarse de manera similar al aumento de los niveles de Na y Ca en adultos con hipertensión arterial (217, 218). En cambio, no se observó ninguna relación significativa de ningún elemento esencial con la diabetes gestacional.

En cuanto a la influencia del contexto medioambiental, no se hallaron diferencias significativas en los minerales y oligoelementos esenciales dependiendo del tipo de residencia, o hábito tabáquico, al igual que en el estudio de Domellöf et al. (219). La consistencia de las concentraciones entre las poblaciones a pesar del rango de geografía y estilo de vida probablemente refleja la importancia de estos elementos para el desarrollo, existiendo mecanismos fisiológicos comunes para mantener niveles adecuados de estos elementos esenciales para la nutrición del neonato y lactante.

Objetivamos una relación positiva significativa de los niveles de Cu y Fe con el consumo de agua de pozo ($p < 0,041$). Previamente se había descrito la asociación de agua de pozo con niveles elevados de Fe en áreas contaminadas en varios estudios (220, 221), pero es la primera vez que se describe una asociación con niveles elevados de Cu. Se ha demostrado que la exposición excesiva al Fe está asociada con riesgos para la salud que incluyen diabetes, obesidad e hígado graso (222), mientras que la intoxicación aguda por Cu causa síntomas gastrointestinales, que incluyen dolor abdominal, diarrea y vómitos (86).

5.3 MINERALES Y OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN LECHE DE FÓRMULA

En las leches de fórmula infantil encontramos, como se esperaba, un incremento en el contenido de Fe en las leches de continuación ($p = 0,027$). El Comité de Nutrición de la AAP ha abogado firmemente por la fortificación de las LF con Fe como una forma de reducir la prevalencia de anemia y sus secuelas concomitantes durante el primer año de vida (223).

Destaca que en leches de fórmula para prematuros hemos observado un aumento significativo en el Co ($p < 0,001$), con valores hasta 3 veces mayores que en el resto de las leches de fórmula. El Co y sus compuestos están ampliamente distribuidos en la naturaleza y forman parte de numerosas actividades antropogénicas. El Co es un

componente de la vitamina B12 y se ha relacionado con la síntesis de anticuerpos y la actividad fagocítica en neutrófilos y macrófagos, pero se ha demostrado que una exposición excesiva induce varios efectos adversos para la salud. Los efectos sistémicos sobre la salud se caracterizan por un síndrome clínico complejo, que incluye principalmente déficits neurológicos (por ejemplo, deficiencias auditivas y visuales), cardiovasculares y endocrinas (21). Además de la ingesta de Co en la dieta, se pueden ingerir en forma de suplementos que contienen Co o suplementos de vitamina B12, por lo que habrá que ser precavidos en los recién nacidos prematuros alimentados con fórmula y que precisen este tipo de suplemento. Aun así, es poco probable que se produzcan efectos sobre la salud con concentraciones de Co inferiores a 300 µg/L en adultos sanos (224).

Si comparamos las leches de fórmula con la leche materna, observamos que casi todos los oligoelementos esenciales, con especial atención al Fe y Zn, se encuentran con valores entre 5 y 10 veces mayores en LF que en LM, porque la producción de fórmulas también debe considerar diferencias en biodisponibilidad y pérdida durante la producción y almacenamiento (225).

5.4 OLIGOELEMENTOS TÓXICOS EN LECHE MATERNA

En este estudio se llevó a cabo la determinación de los niveles de talio en LM. La determinación de este elemento se realiza por primera vez en este trabajo, dado que no encontramos ninguna referencia en la literatura previamente. Hemos encontrado una concentración media de $0,04 \pm 0,03$ µg/L en LM madura (rango 0,02 – 0,05 µg/L). El Tl es un metal altamente tóxico que también se encuentra naturalmente en el medio ambiente y, por lo tanto, puede contaminar el agua y los alimentos (184). Hasta ahora, no se ha establecido una ingesta diaria tolerable. No tiene un uso biológico conocido y no parece ser un elemento esencial para la vida. Numerosos estudios indican que los compuestos de Tl se absorben fácilmente en humanos. La exposición humana puede ser a través de diferentes vías: oral, por ingestión de alimentos contaminados, dérmica o respiratoria, por inhalación de

polvo y humos. La absorción de Tl por la mucosa es casi completa (80% a 100%) y muy rápida. Después de la absorción, el Tl se distribuye de la sangre a los tejidos. En los humanos, los riñones presentan las concentraciones más altas, seguidos por los huesos, el estómago, los intestinos, el bazo, el hígado, los músculos, los pulmones y el cerebro. Está bien documentado que el Tl atraviesa la barrera placentaria. Una vez que ingresa al cuerpo, la gravedad de la intoxicación dependerá de la cantidad de Tl absorbido, la reacción inmunitaria y la tolerancia individual al veneno. La característica más destacada de la intoxicación por talio en adultos es la pérdida de cabello o alopecia. Otros síntomas, como trastornos gastrointestinales, presión arterial alta, taquicardia y debilidad persistente, no son específicos del Tl solo (184). En nuestro estudio, solo hemos encontrado una relación positiva significativa con neonatos con menor peso al nacimiento.

Al analizar la evolución de los oligoelementos tóxicos durante el período de la lactancia, observamos que las concentraciones de Cs, Pt, y Sr están aumentadas en el calostro respecto a la leche intermedia y madura ($p < 0,050$). No existe una explicación satisfactoria, sin embargo, se ha sugerido que los neonatos tienen una mayor demanda de concentración de oligoelementos durante los primeros días de vida (116), y el calostro y la LM intermedia tienen niveles altos de proteínas, las cuales tienen una alta capacidad de unión a metales tóxicos.

En este grupo de elementos, destacan los niveles de Cs en el calostro (media $5,48 \pm 4,86$ $\mu\text{g/L}$; rango $2,84$ - $8,12$ $\mu\text{g/L}$), superiores a los encontrados en la literatura previamente: Se describen concentraciones en la LM que varían entre 1 y 5 $\mu\text{g/L}$ (153). Comparando con los valores aconsejados por la AAP (104), a pesar del aumento significativo en la etapa de calostro, no encontramos diferencias significativas, por lo que los RN a término de nuestra área no tienen riesgo de intoxicación por Cs.

En cuanto al Pt en calostro ($0,10 \pm 0,04$ $\mu\text{g/L}$), también encontramos niveles superiores a los encontrados en la literatura previamente,

oscilando entre 0,01 y 0,04 $\mu\text{g/L}$ (175). La acumulación de elementos como el Pt en el medio ambiente se ha incrementado con el tiempo. El contenido de Pt de los polvos de las carreteras puede ser soluble, por lo que entra en las aguas, los sedimentos, el suelo y, finalmente, la cadena alimentaria. El efecto de la exposición ocupacional crónica a los compuestos de Pt está bien documentado y se sabe que ciertas especies de Pt exhiben un potencial alergénico, también se han asociado con asma, náuseas, aumento de la caída del cabello, aumento de abortos espontáneos, y dermatitis (226). En nuestro estudio, a pesar de las concentraciones más altas que los estudios previos, los valores encontrados en las diferentes etapas de LM a término no están por encima de los valores admitidos por la AAP (104), lo que evitaría el riesgo de potenciales efectos tóxicos de este elemento en los RN alimentados con LM.

Por último, si comparamos los valores de Sr de nuestro trabajo con estudios realizados previamente, observamos niveles similares, ya que se describen concentraciones que varían entre 44 y 46 $\mu\text{g/L}$ (181), sin encontrar diferencias significativas.

Por otro lado, el único oligoelemento tóxico que hemos encontrado aumentado en leche madura es el Rb comparado con LM prematura. El Rb es un elemento relativamente abundante en los fluidos y tejidos corporales, y también está presente en la LM, con un comportamiento similar al del K, aunque no se conocen funciones bioquímicas dependientes del Rb. Se han descrito concentraciones de Rb en la LM que oscilan entre 300 y 1200 $\mu\text{g/L}$ (177), valores similares los encontrados en nuestro estudio ($519.64 \pm 164 \mu\text{g/L}$ en LM madura). El Rb muy alto asociado con un bajo nivel de K puede poner los músculos en un estado de semiparálisis (176), aunque en el caso de nuestro estudio, al tener unos niveles normales de K en la LM madura, estos niveles más altos de Rb no deberían suponer un riesgo en la alimentación de nuestros lactantes.

De forma general, la concentración de elementos tóxicos en LM suele aumentar en aquellas madres que tienen un peso mayor, puesto que la mayoría son lipofílicos, se acumulan en la grasa y de ahí difunden a la

LM (227). En el caso de nuestro estudio, observamos este mismo hallazgo en los elementos Al, Ba, Hg, Sr y Tl, con valores aumentados en madres con una ganancia ponderal excesiva durante el embarazo.

Leche de madres de prematuros

En estudios previos se ha informado que la exposición de la madre al Cd podría aumentar el parto prematuro y, en consecuencia, causar disminución del peso al nacer (228). También se han encontrado cambios significativos en madres de bebés prematuros que mostraron contenidos de Hg significativamente más altos en la leche (86). Estos hallazgos son compatibles con los resultados encontrados en nuestro estudio, donde los niveles de Cd ($p < 0,001$) y Hg ($p = 0,019$) son más altos tanto en la LM de partos prematuros como en neonatos con menor peso al nacimiento, además de mostrar en nuestro estudio estos mismos resultados con el Cs ($p < 0,001$), Sr ($p < 0,001$) y Ti ($p < 0,001$). Es la primera vez en la literatura que se determinan los niveles de Sr en LM prematura (media $44,37 \pm 7,95$ $\mu\text{g/L}$; rango $42,78 - 45,95$ $\mu\text{g/L}$).

En cuanto al Cd se han encontrado veintinueve estudios publicados desde el año 2000 que analizaron Cd en la LM, diez realizados en Europa. El Cd analizado por ICP-MS, presentan rangos de $0,0027 - 0,3$ $\mu\text{g/L}$ (139). En la mayoría de los estudios, los niveles medios fueron inferiores a 2 $\mu\text{g/L}$ (148), siendo concordantes con los encontrados en nuestro estudio ($0,45 \pm 0,40$ $\mu\text{g/L}$ en LM pretérmino). El Cd está clasificado como cancerígeno para los humanos, y causa cáncer de pulmón en trabajadores expuestos, con alguna evidencia de cáncer de próstata. El tracto gastrointestinal absorbe del 5 al 10% del Cd ingerido, pero varios factores pueden afectar a la absorción, incluida la deficiencia de vitamina D, Ca o Fe. La absorción de Cd puede aumentar con la deficiencia de hierro, lo que puede contribuir a una mayor absorción en las mujeres embarazadas, con ferropenias frecuentes. La placenta puede actuar como una barrera parcial a la exposición fetal al Cd, ya que la concentración en la sangre del cordón umbilical es aproximadamente la mitad de la de la sangre materna; en cambio los niveles de Cd en la LM son del 5 al 10% de los niveles en sangre (148). El Cd absorbido se acumula principalmente en el riñón y

el hígado, con una vida media estimada de 6 a 38 años y de 4 a 19 años, por lo que los efectos adversos de este elemento pueden producirse a muy largo plazo.

Es importante también destacar los niveles de Cs encontrados en LM prematura ($9,17 \pm 5,00 \mu\text{g/L}$), hasta 2 veces más altos que los descritos en estudios previos (229) y por encima de los niveles aconsejados por la AAP (104). El Cs es relativamente seguro, sin embargo, se ha descrito que la ingestión crónica de Cs causa alteraciones del ritmo cardíaco e insuficiencia cardíaca (84).

En cuanto al Hg, se trata de un tóxico neurológico para los seres humanos (158). Los experimentos muestran que la adquisición de Hg en la vida temprana es cuantitativamente más significativa durante el período prenatal que durante la lactancia. La exposición infantil al Hg durante el desarrollo fetal y la lactancia está estrechamente relacionada con la carga materna de Hg. Más comúnmente, la exposición materna al Hg ambiental está directamente relacionada con el consumo de pescado o empastes de amalgama. La transferencia de Hg de la madre al feto se realiza a través de la placenta (159) y se produce a diferentes velocidades, según la fuente de Hg. Estas fuentes de Hg influyen en las concentraciones totales de Hg en la LM. Se describe un aumento de los niveles de Hg en el plasma de la madre y la leche materna durante la lactancia, y se observan concentraciones que varían entre $0,008$ y $3 \mu\text{g/L}$ (160), valores similares a los encontrados en nuestro estudio. Los síntomas de la exposición crónica de bajo grado son más sutiles e inespecíficos: debilidad, fatiga, anorexia, pérdida de peso y malestar gastrointestinal; en cuanto a exposiciones más altas, se produce temblor fino, gingivitis y salivación excesiva, así como disfunción inmunitaria. (230).

Es la primera vez en la literatura que se determinan los niveles de Sr en LM prematura (media $44,37 \pm 7,95 \mu\text{g/L}$; rango $42,78 - 45,95 \mu\text{g/L}$). D'Haese et al. observaron por biopsia ósea que los niveles de Sr están aumentados en pacientes con osteomalacia en comparación con individuos con histología ósea normal (231) y sabemos que el raquitismo puede ser un problema importante en RN prematuros y en

PEG, por lo que puede haber una asociación con los altos niveles de Sr encontrados en la LM pretérmino y la osteopenia frecuente en neonatos.

La ingesta de Ti se ha relacionado principalmente con su poder carcinogénico en diferentes órganos del cuerpo (232). Previamente se habían descrito concentraciones de Ti en LM entre 6,3 y 270 $\mu\text{g/L}$ (175). Los valores observados en nuestro estudio concuerdan con estas concentraciones y con las admitidas por la AAP (104).

Por lo tanto, aunque hemos encontrados valores elevados en determinados oligoelementos tóxicos en LM prematura, destacan únicamente los niveles de Cs y Sr, este último analizado por primera vez en LM prematura, con valores por encima de los aconsejados por los estándares internacionales, lo que conlleva un riesgo incrementado de producir toxicidad, sobre todo en relación con problemas cardíacos y osteomalacia.

En cambio, al comparar la LM a término con la LM prematura, solo se observaron niveles aumentados de Ba y Pb en la LM a término ($p < 0,050$). Pocos estudios han publicado hasta la fecha sobre las concentraciones de Ba en la LM. Los niveles reportados de este elemento están en el rango de 3.61 $\mu\text{g/L}$ (139), concordantes con los niveles objetivados en nuestro estudio ($3.25 \pm 2.45 \mu\text{g/L}$ en LM madura). Se ha descubierto que el Ba es una causa potencial de enfermedades cardiovasculares, trastornos gastrointestinales y debilidad muscular cuando las personas están expuestas a niveles superiores durante períodos relativamente cortos (143).

En cuanto al Pb, en los estudios realizados hasta el momento en LM se encontraron concentraciones que varían entre 0,019 y 18,17 $\mu\text{g/L}$ (170 – 172), estando los valores de nuestro estudio por debajo de 1 $\mu\text{g/L}$ por lo que no debería existir riesgo de intoxicación por Pb y por lo tanto de déficits en el desarrollo intelectual asociados a la ingesta de Pb (168).

5.5 OLIGOELEMENTOS TÓXICOS EN LECHE MATERNA Y SU RELACIÓN CON EL CONTEXTO MEDIOAMBIENTAL:

Cuando relacionamos las características del contexto medioambiental con los oligoelementos tóxicos, observamos que existe una mayor concentración de As en las madres que viven en el medio urbano; esto se explicaría porque la biodisponibilidad del As en los alimentos, el agua y el aire puede variar debido a las actividades industriales. Sabemos que la exposición crónica al As a través del agua potable se ha considerado un grave problema de salud pública en muchos países. Más de 100 millones de personas en el mundo están crónicamente expuestas al As y la exposición produce resultados adversos para la salud en humanos. Más del 80% del arsénico inorgánico se absorbe a través del tracto gastrointestinal humano, y la excreción se produce principalmente a través de la orina (135). La vida temprana es un período de mayor vulnerabilidad a la exposición al As (137). En poblaciones donde las concentraciones de As en el agua potable son altas, la exposición temprana se ha asociado con un aumento de la mortalidad fetal, disminución del peso al nacer y disminución de la función cognitiva. Se sabe mucho menos sobre las consecuencias de la exposición de bajo nivel, particularmente en la vida temprana. Sin embargo, a diferencia de la transferencia de As de la placenta al feto, el paso a través de la glándula mamaria es limitado, y se excreta poco As en la leche materna. Por lo tanto, el bebé está protegido contra la exposición al As durante el periodo de lactancia materna exclusiva (139).

Por otro lado, Rahimi et al. (233), demostraron que la concentración de Pb en LM aumentó significativamente en las madres que estuvieron expuestas al tabaquismo, similar a los hallazgos de nuestro estudio. Además, el nivel de Pb en el agua subterránea potable mostró niveles más altos que en el agua superficial potable; el sistema de tuberías aún puede estar unido por soldadura de Pb, y los tanques de almacenamiento revestidos de Pb son comunes en las casas (234, 235). Este hecho explicaría nuestros hallazgos de niveles más altos de Pb en madres que consumen agua de pozo, al igual que niveles más elevados de Ti. Es bien conocida la relación entre los niveles elevados

de Pb en la sangre de los niños y la aparición de déficits en el desarrollo intelectual (118). Además, estudios previos demostraron que la exposición al Ti dio lugar a la activación de la microglía, la producción de especies reactivas de oxígeno, la activación de las vías de señalización implicadas en la inflamación y la muerte celular, y como consecuencia, se produjo una neuroinflamación y una mayor lesión cerebral (236). También se ha observado un deterioro de la memoria de reconocimiento espacial y de la actividad locomotora asociada a la exposición al Ti, por lo que sería interesante hacer un seguimiento de aquellos niños que reciben un aporte elevado de Pb y Ti en la LM, para valorar posibles alteraciones en su desarrollo neurológico.

5.6 OLIGOELEMENTOS TÓXICOS EN LECHE DE FÓRMULA

Es importante señalar que este es el primer trabajo que estudia los niveles de Ga, Li, Tl y U en LF. En el caso del Ga hemos encontrado una concentración desde $2,23 \pm 1,04$ $\mu\text{g/L}$ (rango 0,93 – 3,52 $\mu\text{g/L}$) en fórmulas hidrolizadas, hasta $2,93 \pm 0,98$ $\mu\text{g/L}$ (rango 2,24 – 3,63 $\mu\text{g/L}$) en fórmulas para prematuros, niveles similares a los hallados en LM tanto en nuestro estudio como en estudios en LM previos (59). Hasta el momento es poco conocida el alcance de la exposición crónica al Ga en seres humanos (237).

En cuanto al Li, hemos detectado una concentración desde $1,52 \pm 0,65$ $\mu\text{g/L}$ (rango 0,97 – 2,07 $\mu\text{g/L}$) en leches de continuación, hasta $1,62 \pm 0,89$ $\mu\text{g/L}$ (rango 0,52 – 2,73 $\mu\text{g/L}$) en leches hidrolizadas, siendo niveles incluso más bajos que los encontrados en nuestro estudio en LM. A nivel neuronal, el Li reduce la neurotransmisión excitadora de dopamina y glutamato, pero aumenta la neurotransmisión inhibitoria (164). Los estudios demuestran una reducción de la concentración a la mitad del suero materno a la leche, y también de la leche al plasma infantil, en las mismas proporciones, sin efectos adversos graves (165). En el caso del Tl encontramos valores desde $0,03 \pm 0,01$ $\mu\text{g/L}$ (rango 0,02 – 0,04 $\mu\text{g/L}$) en LF de inicio, hasta $0,08 \pm 0,03$ $\mu\text{g/L}$ (rango 0,06 – 0,11 $\mu\text{g/L}$) en LF para

prematurros. No encontramos diferencias significativas en cuanto al Ga, Li, Tl al compararlos con los valores encontrados en LM.

En cuanto al U, sí que objetivamos valores significativamente mayores en las LF, con niveles entre $0,56\pm 0,32$ $\mu\text{g/L}$ (rango 0,37 – 1,004 $\mu\text{g/L}$) en fórmulas de inicio y hasta $0,94\pm 0,71$ $\mu\text{g/L}$ (rango 0,44 – 1,45 $\mu\text{g/L}$) en fórmulas para prematurros, valores más de 100 veces superiores ($\times 140$ en las LF de inicio y $\times 353$ en las LF para prematurros) a los detectados en LM (0,004 $\mu\text{g/L}$). El U se encuentra en todas partes del medio ambiente, en cantidades variables pero pequeñas, en rocas, aguas, suelos y aire. Las fuentes ambientales importantes de U se derivan también de actividades antropogénicas. Así, la producción y aplicación de fertilizantes fosfóricos y la combustión de carbón, además de la energía nuclear, son, entre otras, importantes actividades antropogénicas fuentes de U que afectan al medio ambiente (185). Los principales efectos adversos para la salud derivados de la exposición a este metal suelen deberse a su importante toxicidad química. La toxicidad por uranio incluye la afectación del sistema nefrológico, neurológico y reproductivo. El objetivo principal de la toxicidad del uranio es el riñón, y se acumula específicamente en el segmento S3 de los túbulos proximales causando daño tubular. Además, la exposición al U también puede aumentar los riesgos de cáncer debido a su radiactividad (186).

Si analizamos los resultados del resto de oligoelementos tóxicos en las LF, observamos que todavía están significativamente contaminadas, especialmente con Al, Sn y V. En cuanto al Al, estos hallazgos ya han sido descritos por nuestro grupo, particularmente en la fórmula hidrolizada (130), con valores de Al por encima de otros tipos de leches. El contenido de Al de la LF es entre 10 y 40 veces mayor que el de la LM, y contribuirá significativamente a la carga corporal de Al en los bebés. La asociación de Al y la enfermedad de Alzheimer tiene una historia significativa (238) y, sin embargo, no existe consenso en cuanto al papel de este neurotóxico en la enfermedad. Se sugiere que, en cualquier lugar del cerebro, donde la concentración de Al sea elevada ($> 2,00$ $\mu\text{g/g}$), este Al contribuirá a facilitar el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer y dará como resultado que la enfermedad

tenga un inicio más precoz y un efecto más agresivo (239). Además del Al, también hemos detectado en nuestro estudio un aumento del Sn, cuya exposición crónica está relacionada con la disminución del crecimiento y anemia (180). Por último, el V también está significativamente más aumentado en todos los tipos de LF en comparación con la LM de nuestro estudio. El V es un metal de transición que se distribuye ampliamente en el suelo, el agua y la atmósfera. Como materia prima importante, el V se utiliza ampliamente en la industria moderna para producir acero y para fabricar automóviles, astilleros, fertilizantes, etc. (187). El V es un elemento relativamente tóxico, siendo los síntomas más frecuentes las alteraciones intestinales y la lengua verdosa (84).

Además, aunque no haya diferencias significativas con los valores de LM, comparando con la literatura sí encontramos valores muy aumentados en la concentración de Ti de las LF estudiadas, ya que previamente se había descrito niveles por debajo del límite de detección (175). El Ti es el noveno elemento más abundante en la corteza terrestre y el séptimo metal más abundante en general. Las nanopartículas de dióxido de titanio se fabrican en todo el mundo en grandes cantidades para su uso en una amplia gama de aplicaciones. La exposición oral se produce principalmente a través de productos alimenticios que contienen aditivos de Ti (183). Tras la exposición pueden inducir lesiones patológicas del hígado, el bazo, los riñones y el cerebro, y la ingesta de estas nanopartículas también ha sido relacionada con problemas motores (240).

Está claro que los elementos tóxicos en el LF son un componente significativo de la exposición temprana a este contaminante y, como tal, los fabricantes deben hacer todo lo posible para reducir el contenido de estos productos a un mínimo práctico alcanzable, mientras que al mismo tiempo deben ser requeridos a indicar el nivel de contaminación del producto envasado.

5.7 SESGOS Y LIMITACIONES:

Aunque nuestra investigación determinó las concentraciones de 5 minerales, 14 oligoelementos esenciales y 21 oligoelementos tóxicos en LM, tiene sus limitaciones. No se evaluaron los niveles de los minerales y oligoelementos en la sangre de la madre ni en el recién nacido, para poder correlacionarnos con las concentraciones en las leches estudiadas. Además, tampoco se analizó la dieta de las madres durante el embarazo ni durante la lactancia para valorar posibles influencias de los alimentos en la composición de la LM.

Además, sería de interés realizar un estudio de seguimiento de los niños alimentados con las leches estudiadas que contenían niveles elevados de oligoelementos tóxicos o potencialmente tóxicos, para conocer las posibles consecuencias a medio y largo plazo.

5.8 APORTACIONES DEL ESTUDIO:

La principal fortaleza de este estudio fue la evaluación simultánea de la composición de todos los oligoelementos en la leche materna en sus diferentes etapas, incluyendo en el estudio la leche madura de madres con partos prematuros, y relacionar estos niveles con la influencia de las características y estilo de vida de la madre; además de realizar de forma transversal un análisis de los diferentes tipos de fórmulas infantiles, comparando también los resultados con la información aportada por la industria y con los valores de normalidad descritos por los estándares internacionales.

Este estudio es el primero en describir los niveles de Tl en LM y en LF, de Sr en las LM prematuras y de Ga, Li y U en las LF. Además, encontramos que existe una disminución significativa de los niveles de Se en todas las etapas de LM por debajo de los recomendados, mientras que hemos hallado niveles significativamente mayores de concentraciones de Cs y Sr, aumentados al doble de lo aconsejado.

Hemos descrito también la importancia del medio ambiente en los niveles de los oligoelementos tóxicos, con relaciones particularmente llamativas entre el As y los ambientes urbanos, y el Pb con el tabaco y el consumo de agua de pozo. Además, los valores aumentados de Al, Sn y V y los nuevos hallazgos de los niveles de U encontrados en las LF en comparación con la LM debieran ser objeto de evaluación y pensamos que sería recomendable intentar reducir sus niveles para evitar posibles consecuencias a largo plazo para la salud de los niños y de los adultos.





6. CONCLUSIONES

- 1 Se ha llevado a cabo un estudio transversal en 310 muestras de leche materna, que se distribuyeron en 210 leches de RN a término, diferenciándolas según las diferentes etapas de lactación en calostro (70 muestras), leche intermedia (70 muestras) y leche madura (70 muestras), además de 100 leches prematuras maduras, en las que se midieron las concentraciones de 35 elementos que se distribuyeron en 5 minerales (Ca, K, Mg, Na y P) (medidos por ICP-OES), 9 oligoelementos esenciales (Co, Cr, Cu, Fe, I, Mn, Mo, Se y Zn) y 21 oligoelementos tóxicos (Ag, Al, As, Ba, Be, Cd, Cs, Ga, Hg, Li, Ni, Pb, Pt, Rb, Sb, Sn, Sr, Ti, Tl, U, y V). Los oligoelementos se midieron por ICP-MS. La misma metodología analítica se aplicó a 30 muestras de leches de fórmula (fórmulas de inicio, fórmulas de continuación, fórmulas hidrolizadas y fórmulas de prematuros). Los resultados analíticos de la leche materna se correlacionaron con el estado de salud gestacional, el estilo de vida, el contexto medioambiental y el peso del RN.
- 2 Se analizó por vez primera la determinación de los niveles de talio en leche materna. Nuestros resultados muestran una concentración media de $0,03 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ en el calostro, de $0,03 \pm 0,02 \mu\text{g/L}$ en la LM intermedia, de $0,04 \pm 0,03 \mu\text{g/L}$ en la LM madura y de $0,04 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ en las LM prematura, sin diferencias significativas. Se observó una relación significativa negativa de las concentraciones de Tl en la leche materna con el peso de los neonatos al nacimiento.
- 3 Se ha realizado por primera vez la determinación de los niveles de galio, litio y uranio en fórmulas infantiles. Los niveles de Ga

encontrados muestran unas concentraciones medias que oscilaron entre 2,23 y 2,93 $\mu\text{g/L}$, con un rango entre 0,93 y 3,63 $\mu\text{g/L}$. Los de Li mostraron valores medios entre 1,52 y 1,62 $\mu\text{g/L}$, con un rango entre 0,52 y 2,73 $\mu\text{g/L}$, y para el uranio los valores medios fueron entre 0,64 y 0,94 $\mu\text{g/L}$ con un rango entre 0,2 y 1,88 $\mu\text{g/L}$. Nuestros resultados muestran valores de U significativamente más altos ($p < 0,001$) en las leches de fórmula que los valores hallados en la leche materna, teniendo por ello presente el riesgo de toxicidad de este elemento en los neonatos y lactantes alimentados con leche de fórmula.

- 4 La leche materna de las madres de los neonatos a término y pretérmino no presentaron diferencias significativas entre las concentraciones de los minerales con la excepción de los valores del Ca ($p = 0,024$). El calcio aumenta significativamente según avanza la lactancia ($p = 0,001$).
- 5 Nuestros resultados muestran una disminución de la concentración de oligoelementos esenciales en la leche materna a medida que avanza la lactancia, con la única excepción para el I, siendo significativa para el Cu ($p = 0,029$), el Mn ($p = 0,039$), el Mo ($p < 0,001$) y el Se ($p < 0,001$). La leche prematura madura presenta menores concentraciones significativas que la leche a término madura para el Cr ($p = 0,036$), el Fe ($p = 0,016$), el I ($p = 0,045$), el Se ($p < 0,001$) y el Zn ($p < 0,001$). Más del 50% de la LM presentan concentraciones de Se inferiores a las recomendadas por la AAP, por lo que, al menos en la población neonatal e infantil de nuestra área, en los suplementos nutricionales se debe tener en cuenta la suplementación de este oligoelemento esencial.
- 6 Los niveles de minerales y de los oligoelementos esenciales en la leche madura de las madres de RN a término no muestran variaciones significativas en relación con la edad de la madre, el lugar de residencia, al consumo de agua de pozo o al hábito tabáquico.

- 7 Los 21 oligoelementos tóxicos estudiados en la leche materna a término presentan tres perfiles en la valoración de sus concentraciones conforme avanza la lactancia. Once de ellos presentan valores descendentes desde los niveles del calostro a la leche madura -con variaciones significativas para el Cs ($p=0,045$) el Pt ($p=0,025$) y el Sr ($p=0,027$)-, seis tiene perfiles ascendentes, siendo solo significativo el ascenso en la concentración para el Rb ($p=0,015$) y en cuatro no se detectaron variaciones. La LM prematura presenta frente a la LM a término variaciones en las concentraciones medidas de estos elementos: Siete de ellos presentan valores mayores con diferencias significativas para el Cd ($p<0,001$), el Cs ($p<=,001$) y el Hg ($p=0,019$); ocho presentan valores menores con diferencias significativas para el Ba ($p=0,047$), el Pb ($=0,004$) y el Sr ($p<0,001$) y en seis de ellos no se detectaron variaciones. Destacan los niveles de cesio y estroncio, este último analizado por primera vez en leche prematura, con valores por encima de los aconsejados por los estándares internacionales, lo que conlleva un riesgo incrementado de toxicidad a largo plazo, sobre todo en relación con problemas cardíacos y de mineralización ósea.
- 8 Las concentraciones de los minerales Ca, Mg y Na en la leche materna madura presentan una relación positiva significativa con el peso del RN en el momento del nacimiento ($p<=0,0001$) y los oligoelementos esenciales presentan una correlación significativa con el peso del RN en el Co ($p=0,002$), el Cr ($p<0,001$), el I ($p<0,001$), el Mo ($p=0,002$), el Se ($<0,001$) y el Zn ($p<0,001$).
- 9 El peso del RN en el momento del nacimiento presenta correlaciones significativas negativas con los oligoelementos tóxicos para el As ($p<0,001$), el Cs ($p<0,001$), el Ga ($p=0,016$), el Hg ($p=0,001$), el Pb ($<0,001$), el Sr ($p=0,001$), el Ti ($p=0,029$), el Tl ($p=<0,001$) y el V ($p<0,001$).

- 10 La hipertensión gestacional presenta una correlación significativa con los niveles en la LM madura a término de Ca ($p=0,024$) y de Na ($p<0,001$), y con los niveles del oligoelemento esencial Se ($p=0,049$); mientras que la diabetes gestacional materna no presenta ninguna correlación significativa con las concentraciones de minerales, ni con las de los oligoelementos esenciales en la LM madura a término.
- 11 Objetivamos una relación significativa entre el contexto medioambiental y los niveles de oligoelementos tóxicos, con relaciones particularmente llamativas entre el As en los ambientes urbanos ($p=0,013$), y el Pb con el tabaquismo ($p=0,024$) y el consumo de agua de pozo ($p=0,046$). Teniendo en cuenta la potencial toxicidad del arsénico y el plomo, se debería valorar la sumación de estos 3 factores (ambientes urbanos, consumo de agua de pozo y hábitos tabáquicos) como incrementadores de la posible presentación de alteraciones en el desarrollo psicomotor.
- 12 Las leches de fórmula evaluadas no presentan variaciones significativas en las concentraciones de los minerales. Tienen valores más elevados significativos: las fórmulas de continuación para el Fe ($p=0,027$), las fórmulas de prematuros para el Co ($p<0,001$), y las fórmulas hidrolizadas para el Mn ($p<0,001$), presentando también valores significativos más bajos para el Mo ($p=0,012$). Debido a los niveles aumentados de cobalto en fórmula para prematuros, habrá que prestar especial atención a aquellos recién nacidos prematuros suplementados con vitamina B12, para evitar posibles alteraciones bioquímicas o nutricionales asociadas a la ingesta excesiva de cobalto.
- 13 El análisis de las concentraciones de los oligoelementos tóxicos en las leches de fórmula presenta un patrón bastante semejante entre las de los cuatro tipos estudiados: las fórmulas de inicio presentan valores significativos mayores solo para el Sb ($p=0,017$), las fórmulas hidrolizadas solo para el Al ($p=0,012$) y las fórmulas de prematuros para el Sr ($p<0,001$), el U ($p=0,014$) y el V ($p=0,019$).

- 14 Las leches de fórmula de inicio estudiadas comparativamente con la leche madura de madres de RN a término presentan valores significativos ($p < 0,001$) superiores en las concentraciones de los minerales Ca, K y Mg y en las de los oligoelementos esenciales Co, Fe, Mn, Mo, Se y Zn. El mismo patrón diferencial lo encontramos entre las fórmulas para prematuros y la leche madura prematura.
- 15 Los oligoelementos tóxicos se encuentran en valores significativos ($p < 0,001$) en las leches de fórmula en comparación con las LM madura en el Al, el Hg, el Ni, el Sb, el Sn, el Sr, el U y el V de forma positiva, con valores mayores; el Rb presenta valores menores. Dada la existencia de estas diferencias significativas de oligoelementos potencialmente tóxicos, la industria debería intentar reducirlos para acomodarlos como mínimo a los que se encuentran en las leches maternas, aunque son aconsejables más estudios y en diferentes localizaciones Sería recomendable además indicar los niveles de estos elementos en el envase del producto.
- 16 Los valores de minerales y de oligoelementos en leche materna objetivados en nuestro estudio están dentro de los límites aconsejados por los estándares internacionales (AAP), a excepción del Se, el Cs y el Sr. En las leches de fórmula infantil, todos los valores están dentro del rango de las recomendaciones de la ESPGHAN, además de coincidir con los valores aportados por la industria.



7. ANEXO 1: Publicaciones

Mandiá N, Bermejo-Barrera P, Herbello P, López-Suárez O, Fraga JM, Fernández-Pérez C, Couce ML. Human Milk Concentrations of Minerals, Essential and Toxic Trace Elements and Association with Selective Medical, Social, Demographic and Environmental Factors. *Nutrients*. 2021 May; 13:1885.

Natalia Mandiá Rodríguez ha recopilado los datos del estudio y ha redactado el manuscrito, además de participar en su revisión.

<https://doi.org/10.3390/nu13061885>

Factor de impacto: 5.717

Categoría y cuartil: Food Science (Q1) (30/214); Nutrition and Dietetics (Q1) (17/89)

<https://www.mdpi.com/1132044>



Article

Human Milk Concentrations of Minerals, Essential and Toxic Trace Elements and Association with Selective Medical, Social, Demographic and Environmental Factors

Natalia Mandiá ^{1,2,3,*}, Pilar Bermejo-Barrera ⁴, Paloma Herbello ⁴, Olalla López-Suárez ^{1,2,3}, Jose M. Fraga ^{2,3}, Cristina Fernández-Pérez ⁵ and María L. Couce ^{1,2,3,6,*} 

- ¹ Department of Neonatology, University Clinical Hospital of Santiago de Compostela, 15704 Santiago de Compostela, Spain; olalla.elena.lopez.suarez@sergas.es
- ² IDIS-Health Research Institute of Santiago de Compostela, 15704 Santiago de Compostela, Spain; josemaria.fraga@usc.es
- ³ Faculty of Medicine, University of Santiago de Compostela, 15704 Santiago de Compostela, Spain
- ⁴ Group of Trace Elements, Speciation and Spectroscopy (GETEE), Strategic Grouping in Materials (AEMAT), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, Faculty of Chemistry, University of Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias, s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain; pilar.bermejo@usc.es (P.B.-B.); paloma.herbello@usc.es (P.H.)
- ⁵ Department of Preventive Medicine, University Hospital of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela University, 15704 Santiago de Compostela, Spain; cristina.fernandez.perez3@sergas.es
- ⁶ MetabERN, via Pozzuolo 330, 33100 Udine, Italy
- * Correspondence: natalia.mandia.rodriguez@sergas.es (N.M.); maria.luz.couce.pico@sergas.es (M.L.C.); Tel.: +34-618-079-100 (N.M.); +34-981-950-151 (M.L.C.)



Citation: Mandiá, N.; Bermejo-Barrera, P.; Herbello, P.; López-Suárez, O.; Fraga, J.M.; Fernández-Pérez, C.; Couce, M.L. Human Milk Concentrations of Minerals, Essential and Toxic Trace Elements and Association with Selective Medical, Social, Demographic and Environmental Factors. *Nutrients* **2021**, *13*, 1885. <https://doi.org/10.3390/nu13061885>

Academic Editor: Roberto Iacone

Received: 3 May 2021

Accepted: 27 May 2021

Published: 31 May 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: This study aims to quantify concentrations of minerals and trace elements in human milk (HM) and infant formula (IF) and evaluate associations with medical, social, environmental, and demographic variables. A prospective, case series study of 170 nursing mothers was made. HM samples were obtained from full-term (colostrum, intermediate and mature HM) and preterm (mature HM) mothers. Variables of interest were assessed by a questionnaire. For comparison, IF samples ($n = 30$) were analyzed in a cross-sectional study. Concentrations of 35 minerals, essential and toxic trace elements were quantified, 5 for the first time: thallium in HM and IF; strontium in preterm HM; and gallium, lithium and uranium in IF. In preterm and full-term HM, levels of selenium ($p < 0.001$) were significantly lower than recommended and were associated with low birth weight ($p < 0.002$). Cesium and strontium concentrations were significantly higher than recommended ($p < 0.001$). Associations were within internationally accepted ranges for HM and IF. However, preterm infants are at increased risk of nutritional deficiencies and toxicity. IF manufacturers should reduce the content of toxic trace elements.

Keywords: breast milk; trace elements; minerals; toxic metals; infant milk formula; newborn; preterm

1. Introduction

Human milk (HM) is considered the gold standard for infant nutrition, both for full-term and preterm infants [1,2]. HM influences the intestinal microflora, ensures structural and functional maturity of the mucous membranes, reduces the risk of allergies and autoimmune disorders, and contributes to proper development of the digestive, central nervous, endocrine, and immune systems [3–5]. The composition of HM is not always the same, the fat and energy content varies from the beginning to the end of the HM intake, it

follows a diurnal pattern and varies between each individual, depending on the type of delivery, lactation period, maternal diet and area of residence [6,7]. It is widely reported that maternal diet influences the nutritional composition of breast milk [8]. However, the amount of variability in HM attributable to diet remains mostly unknown. Previous studies on trace elements in HM included factors affecting its trace elements and maternal diet. Most studies have focused on component analysis or nutritional aspects of HM, but only a few studies have confirmed the relationship between trace elements in HM and psychosocial variables [9]. Donated human milk (DHM) can be used in preterm infants when HM is insufficient or not available.

For babies that cannot be breastfed or receive DHM, one alternative is infant milk formula (IF), the composition of which is continuously adapted to provide similar nutritive benefits to HM. Recommendations on the composition of IF and HM are established by the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) [10] and the American Academy of Pediatrics (AAP) [11].

Deficits in micronutrients in HM or IF in early life have adverse effects on infants and are associated with short-term infections and higher rates of diseases [12]. Excessive levels of micronutrients can also be harmful [6,13]. In addition to essential elements, milk consumption can also result in the transfer to infants of potentially toxic metals [14]. Given the importance of adequate micronutrient intake in early life and the differences in diets and environments between populations, analysis of trace elements in IF is important from a public health perspective. In recent years, several studies have measured the concentration of trace elements in HM from women in different countries [1,15–20]. However, no study has comprehensively compared the levels of all essential elements in HM versus IF. To evaluate the composition of milk in our population and potential health risks associated, we quantified levels of minerals and trace elements in HM samples acquired at different stages from mothers of preterm and full-term infants and in samples of IF for infants in the first year of life.

2. Material and Methods

2.1. Study Design and Population

We conducted a prospective, case series, single-center study of nursing mothers and a cross-sectional study of IF in University Clinical Hospital of Santiago de Compostela (Spain), shown in Figure 1. The inclusion criteria of nursing mothers were maternal age > 18 years old, without chronic disease and without taking nutrient supplements. All potential participants were introduced to this research and invited to join the study during prenatal and postnatal care at our institution. After receiving prior written informed consent, HM samples (5–10 mL) were obtained in 3 different periods of lactation during the first 6 months after birth: colostrum during the first 3–4 days of lactation, intermediate milk up to 7–10 days, and later mature milk, both in mothers of full-term; and later mature in mothers of premature newborns. Samples of full-term colostrum ($n = 70$), intermediate HM ($n = 70$), mature HM ($n = 70$) and preterm mature HM ($n = 100$) were collected between 1 January 2018 and 30 June 2019. In addition, we made a comparison group with 30 IF samples, selecting the brands used in our institution for children under 1 year of age, that account for 30% of the total brands sold in Spain, and classified into 4 groups: starter formulas ($n = 13$), continuation formulas ($n = 10$) (both milk protein-based formulas), hydrolyzed formulas ($n = 5$), and formulas for preterm infants ($n = 2$).

Concentrations of the elements in milk were analyzed at the Laboratory of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology of the University of Santiago de Compostela. Elements were classified into 3 groups: minerals ($n = 5$), including calcium (Ca), potassium (K), magnesium (Mg), sodium (Na), phosphorus (P); essential trace elements ($n = 9$), including cobalt (Co), chromium (Cr), copper (Cu), iron (Fe), iodine (I), manganese (Mn), molybdenum (Mo), selenium (Se), zinc (Zn); and toxic trace elements ($n = 21$), including silver (Ag), aluminum (Al), arsenic (As), barium (Ba), beryllium (Be), cadmium (Cd), cesium (Cs), gallium (Ga), mercury (Hg), lithium (Li), nickel (Ni), lead (Pb), platinum (Pt), rubidium

(Rb), antimony (Sb), tin (Sn), strontium (Sr), titanium (Ti), thallium (Tl), uranium (U), and vanadium (V).

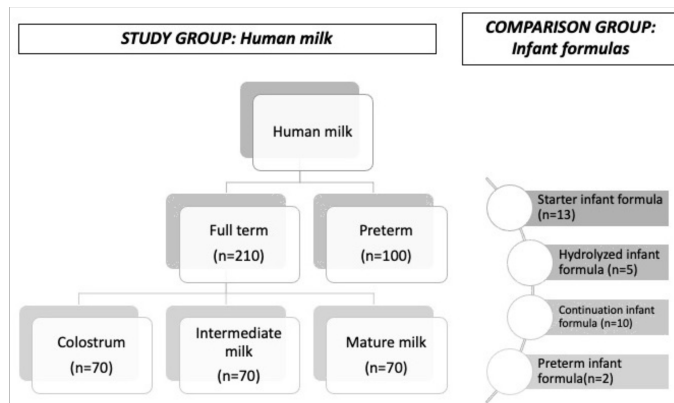


Figure 1. Study design.

Data were collected on medical, social, environmental, and demographic factors that may influence the composition of HM. For each participating mother, age, weight gain during pregnancy (excessive weight gain ≥ 16 kg) [21], residency, and smoking and drinking status were evaluated at the end of pregnancy. Gestational age and birth weight were recorded for all newborns.

Study approval was obtained from the Research Ethics Committees of Galicia (2017/082) and all the samples collected were analyzed exclusively for the purpose of the present study.

2.2. Method

2.2.1. Sample Collection and Preparation

For collection of HM samples, the nipple area of the breast was washed with soap and water and HM was manually extracted and collected in sterile plastic containers made of polyethylene terephthalate (PET). The containers were labeled to indicate the day of sample collection and all samples were stored at -20°C until analysis. For IF samples, 30 g of milk powder was collected in PET storage containers under a laminar flow hood and subsequently reconstituted following the manufacturer's recommendations.

2.2.2. Analyses

Levels of trace elements in milk samples were quantified using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), following the procedure described by Mohd-Taufek et al. [22]. For this, a solution is prepared containing 0.01% (m/V) of Triton X-100, 10 g/L of Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA), 2.5% (v/v) of ammonia and 10% (v/v) of 2-propanol prepared in Mili-Q[®] ultrapure water. Once the HM samples are homogenized by heating them in an ultrasonic bath between 35 and 38 $^{\circ}\text{C}$, 400 μL of milk is taken, 1 mL of the previously prepared alkaline solution is added and it is brought to a final volume of 10 mL with Military H₂O Q[®].

The preparation of IF samples has been performed by simplifying the process, since the fat content of IF is lower than in HM and is also hydrolyzed, resulting in a much simpler matrix. The quantity of sample necessary to obtain the same proportion recommended by the manufacturer of the IF was weighed. Once dissolved and homogenized, samples of 0.4 mL of milk and 1 mL of the solution of 0.01% (v/v) of Triton X-100 were taken, and

H₂O Mili-Q® was added to a final volume of 10 mL. The NIST SRM 1849 for IF samples and the certified milk reference materials ERM-BD 150 for low concentration levels and the ERM-BD 151 for higher levels in some elements have been used as certified reference materials. Once dissolved with ultrapure water, these materials have been prepared in the same manner as the samples.

The measurements of the trace elements in the milk samples have been performed with an ICP-MS model NexION® 300× (PerkinElmer Inc., Shelton, CT, USA). The standard addition method has been used for the quantification of concentrations using different concentration levels between 0 and 25 µg/L. In the case of the majority elements, the measurement equipment has been used with an inductively coupled optical atomic emission spectrometry (ICP-OES) model Optima 3300 DV (PerkinElmer Inc., Norwalk, CA, USA). The calibration of the equipment has been carried out using the standard addition method with concentration standards between 0 and 5 mg/L for Ca, K, and Mg, and between 0 and 25 mg/L for Na and P. The instrumental conditions of the ICP-MS and ICP-OES are detailed in the Supplementary Table S1.

2.3. Statistical Analysis

A minimum sample size of 63 per group was required to detect differences of at least 50% between the means of two normal quantitative variables with a significance level of 5% and a statistical power of 80% in the case of human milk samples. For the infant formula samples, the sample size was not calculated. Data were analyzed using the statistical program SPSS. Categorical variables are presented as numbers and percentages, and continuous variables as the mean and standard deviation. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. For normally distributed numeric variables, ANOVA was used to compare groups. In addition, in order to compare the means in groups of different sizes, the Bonferroni test was used. Categorical variables were compared using the χ^2 test. Associations between absolute change means in trace element concentrations and the variables of interest were evaluated using linear regression models, with change represented as a coefficient. Results are presented with the corresponding 95% confidence interval and *p*-values < 0.05 indicate a statistically significant difference.

3. Results

3.1. Characteristics of the Study Participants

Table 1 shows medical, social, environmental, and demographic data for participating mothers and their infants, according to type of delivery (preterm or full-term). Comparing the characteristics of the two groups, full-term mothers and preterm mothers, both are homogeneous in terms of no significant differences except in the mean gestational age (39 vs. 31 weeks, *p* < 0.05) and the birth weight of the newborns (2990 g in term deliveries vs. 1445 g in preterm deliveries, *p* < 0.05).

3.2. Minerals and Trace Elements in Human Milk

The concentrations of 35 elements in HM are shown in Table 2. These data include TI levels (mean concentration, 0.04 ± 0.05 µg/L in mature HM), which have not been previously quantified in HM. Ca concentrations were higher in mature HM compared with colostrum (*p* = 0.006) and preterm HM (*p* = 0.024) compared with mature term HM. Analysis of essential trace elements revealed significantly lower levels of Cu, Mn, Mo, and Se in full-term mature HM (*p* ≤ 0.039), and of Cr, Fe, I, Se, and Zn in preterm HM (*p* ≤ 0.045). Notably, Se levels were below those recommended by international standards (Supplementary Table S2).

Table 1. Characteristics of nursing mothers and infants.

	Full-Term Mothers (n = 70)		Pre-Term Mothers (n = 100)		p
	Mean (± SD)/Number	Range/%	Mean ± SD/Number	Range/%	
Mother's age (y)	31.91 ± 4.58	24–44	35.52 ± 5.66	23–46	0.234
Maternal weight before pregnancy (kg)	69.74 ± 7.64	47–122	64.43 ± 6.69	48–92	0.424
Excessive weight gain during pregnancy (≥16 kg)	17	24%	23	23%	0.645
Multiple pregnancy	2	2%	13	13%	0.593
Gestational HT	5	7%	17	17%	0.283
Gestational diabetes	4	5%	10	10%	0.103
Residency (urban vs. rural)	52 vs. 18	75%	86 vs. 14	86%	0.248
Well water consumers	14	20%	27	27%	0.323
Smokers	10	14%	12	12%	0.548
Gestational age (wk)	39.12 ± 1.08	37–41.3	31.15 ± 3.25	24.33–34.66	0.043
Newborn weight (g)	2990 ± 391	2410–3830	1445 ± 554	670–2790	0.047

g, grams; HT, hypertension; kg, kilograms; SD, standard deviation; wk, weeks; y, years.

Levels of the toxic elements Cs, Pt, Sn, and Sr were significantly increased ($p < 0.050$) in full-term colostrum, while those of Cd, Cs, Ga, Hg, Sb, Sr, Ti, and V were significantly increased in preterm mature milk ($p \leq 0.047$). These increases were particularly notable for Cs and Sr, levels of which were up to two times higher than those considered acceptable by the AAP (Supplementary Table S2). For four specific elements we observed significant differences in concentrations at each of the timepoints at which preterm and full-term HM was sampled: the mineral Ca; the essential element Se; and two toxic elements, Cs and Sr (Figure 2).

3.3. Minerals and Trace Element in Infant Formula

The concentrations of 35 elements analyzed in IF samples are presented in Table 3. For the four different types of IF analyzed, trace elements were within the range recommended by ESPGHAN ($n = 12$) (Supplementary Table S3), and were consistent with the information provided by the respective manufacturers (Supplementary Table S4). Of 35 elements quantified, concentrations in IF have been previously reported for 31, the levels of the four remaining elements are reported here for the first time: Ga, Li, Tl and U.

Fe is the only essential trace element for which we detected an increase in continuation IF ($p = 0.027$) compared with starter IF. In preterm IF we observed a significant increase in Co ($p < 0.001$), levels of which were up to 3–6 times higher than in the other IF types analyzed. Preterm IF also contained significantly higher concentrations of the toxic elements Sr, U, and V ($p \leq 0.019$).

As shown in Table 4, compared with mature HM we observed increases in the concentrations of toxic trace elements Al, Be, Rb, Sr, U and V in starter and continuation IF ($p \leq 0.001$). In addition, they are also increased in preterm IF compared to preterm HM. This effect was particularly notable for U, levels of which were over 100 times higher in all types of IF ($p < 0.001$).

Table 2. Concentration of trace elements in human milk according to lactation stage.

Element	Type of Milk	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value	Element	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value
			Lower	Upper				Lower	Upper	
Minerals (mg/L)										
Ca	TC	245.36 ± 49	233.43	257.29	0.006	Na	188.88 ± 53	106.14	231.61	>0.999
	TI	270.59 ± 73	250.92	290.27			122.36 ± 87	99.05	145.68	
	TM	291.04 ± 53	278.09	303.99			124.93 ± 60	110.18	139.68	
K	PM	298.76 ± 57	280.36	310.17	0.024	P	131.39 ± 54	124.48	138.30	>0.999
	TC	333.46 ± 94	308.14	458.78	134.85 ± 19		130.28	139.62		
	TI	350.06 ± 70	332.84	467.28	129.62 ± 25		122.85	136.39		
Mg	TM	434.10 ± 119	405.31	462.89	>0.999	P	128.39 ± 27	121.67	135.10	>0.999
	PM	373.65 ± 103	352.92	494.38	>0.999		125.31 ± 31	119.10	131.51	
	TC	29.91 ± 7	28.19	41.62	>0.999					
Mg	TI	35.98 ± 6	34.12	37.84	>0.999					
	TM	38.19 ± 8	36.21	40.17	>0.999					
	PM	37.36 ± 6	36.16	38.56	>0.999					
Essential Trace Elements (µg/L)										
Co	TC	0.057 ± 0.02	0.049	0.065	>0.999	Mn	2.60 ± 3.50	1.67	3.54	0.039
	TI	0.052 ± 0.06	0.037	0.067			1.74 ± 0.75	1.56	1.93	
	TM	0.044 ± 0.02	0.039	0.050			1.68 ± 1.00	1.44	1.92	
Cr	PM	0.052 ± 0.01	0.049	0.056	0.827	Mo	1.99 ± 0.93	1.80	2.18	>0.999
	TC	3.61 ± 0.99	3.38	3.85	1.88 ± 1.2		1.47	2.29		
	TI	3.5 ± 0.00	3.5	3.5	1.22 ± 1.98		0.82	1.76		
Cu	TM	3.5 ± 0.00	3.5	3.5	>0.999	Se	0.96 ± 1.16	0.68	1.25	<0.001
	PM	3.22 ± 1.04	3.01	3.71	0.70 ± 1.17		0.47	0.94		
	TC	339.34 ± 185	211.20	289.03	10.82 ± 3.41		9.90	11.73		
Cu	TI	269.15 ± 135	236.02	302.29	0.029	Se	9.91 ± 1.95	9.44	10.38	0.001
	TM	250.11 ± 163	290.21	389.86	8.87 ± 2.44		8.28	9.47		
	PM	265.33 ± 71	251.03	279.63	4.97 ± 3.77		4.22	9.72		

Table 2. Cont.

Element	Type of Milk	Interval for Mean		Mean ± SD	p-Value	Element	Interval for Mean		Mean ± SD	p-Value
		Lower	Upper				Lower	Upper		
Fe	TC	162.82	211.32	187.70 ± 90	>0.999	Zn	762.22	1248.20	1005.21 ± 1019	>0.999
	TI	166.09	204.46	185.28 ± 78			797.25	1285.57	1041.41 ± 911	
	TM	157.97	198.96	176.51 ± 94			1004.30	1471.22	1237.76 ± 949	
I	PM	119.71	190.15	138.43 ± 83	0.016		316.06	1401.85	558.95 ± 716	<0.001
	TC	94.96	122.3	108.63 ± 51	>0.999					
	TI	109.37	134.52	121.95 ± 51						
TM	106.84	149.12	127.98 ± 88							
PM	84.57	105.79	95.18 ± 53	0.045						
Toxic Trace Elements (µg/L)										
Ag *	TC	0.10	0.10	0.10 ± 0.00	>0.999	Pb	0.14	0.88	0.51 ± 1.56	>0.999
	TI	0.10	0.10	0.10 ± 0.00			0.22	0.43	0.33 ± 0.38	
	TM	0.10	0.10	0.10 ± 0.00			0.25	0.36	0.30 ± 0.23	
Al	PM	0.10	0.10	0.10 ± 0.00	>0.999		0.09	0.10	0.10 ± 0.01	0.004
	TC	7.79	9.28	8.54 ± 3.12	0.736	Pt	0.03	0.16	0.10 ± 0.24	0.025
	TI	6.35	8.52	7.44 ± 4.05			0.04	0.06	0.05 ± 0.04	
TM	7.02	7.56	7.29 ± 1.11	0.04			0.06	0.05 ± 0.03		
As	PM	7.04	8.79	7.92 ± 4.38	>0.999		0.04	0.04	0.04 ± 0.01	>0.999
	TC	0.52	1.34	0.93 ± 1.54	>0.999	Rb	392.51	462.31	427.41 ± 130	0.013
	TI	0.70	1.51	1.11 ± 0.171			416.22	480.51	448.36 ± 131	
TM	0.93	1.82	1.37 ± 1.82	480.4			558.94	519.64 ± 164		
PM	1.05	1.29	1.17 ± 0.60	>0.999		472.95	511.66	492.31 ± 97	>0.999	
Ba	TC	1.98	6.05	4.02 ± 8.52	>0.999	Sb	0.06	0.08	0.07 ± 0.04	>0.999
	TI	2.51	5.02	3.77 ± 4.68			0.05	0.07	0.06 ± 0.02	
	TM	2.65	3.85	3.25 ± 2.45			0.05	0.07	0.06 ± 0.04	
PM	2.24	2.67	2.46 ± 1.07	0.047		0.06	0.13	0.10 ± 0.17	0.013	

Table 2. Cont.

Element	Type of Milk	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value	Element	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value
			Lower	Upper				Lower	Upper	
Be *	TC	0.10 ± 0.00	0.10	0.10	>0.999	Sn	0.09 ± 0.07	0.07	0.11	<0.001
	TI	0.10 ± 0.00	0.10	0.10			0.07 ± 0.01	0.06	0.07	
	TM	0.10 ± 0.00	0.10	0.10			0.07 ± 0.00	0.07	0.07	
Cd	PM	0.10 ± 0.00	0.10	0.10	>0.999	Sr	0.07 ± 0.00	0.07	0.07	>0.999
	TC	0.18 ± 0.07	0.16	0.20			45.42 ± 18	40.34	50.50	
	TI	0.16 ± 0.05	0.14	0.17			38.18 ± 16	34.33	42.03	
Cs	TM	0.15 ± 0.20	0.10	0.20	0.754	Ti	36.36 ± 12	33.40	39.32	0.027
	PM	0.45 ± 0.49	0.35	0.54	<0.001		44.37 ± 7.95	42.78	55.95	
	TC	5.48 ± 9.86	2.84	8.12	0.049		36.78 ± 7.81	34.68	38.87	
Ca	TI	4.17 ± 4.86	3.01	5.33	0.049	Ti	37.25 ± 13	34.02	40.48	>0.999
	TM	3.13 ± 1.73	2.71	3.55			40.90 ± 7.75	39.05	42.75	
	PM	9.17 ± 5.00	5.17	10.17			48.82 ± 23	45.06	54.58	
Hg	TC	1.84 ± 0.37	1.74	1.94	>0.999	Ti	0.03 ± 0.01	0.03	0.03	>0.999
	TI	1.93 ± 0.61	1.77	2.08			0.03 ± 0.02	0.02	0.03	
	TM	2.08 ± 0.51	1.95	2.20			0.04 ± 0.05	0.02	0.05	
Li	PM	2.21 ± 0.57	2.10	2.33	0.005	U *	0.04 ± 0.01	0.04	0.04	>0.999
	TC	0.34 ± 0.18	0.29	0.39	0.004 ± 0.00		0.004	0.004		
	TI	0.32 ± 0.12	0.29	0.35	0.004 ± 0.00		0.004	0.004		
V *	TM	0.31 ± 0.08	0.29	0.33	>0.999	V *	0.004 ± 0.00	0.004	0.004	>0.999
	PM	0.42 ± 0.31	0.45	0.18	0.019		0.004 ± 0.00	0.004	0.004	
	TC	2.48 ± 4.47	1.28	3.8	0.05 ± 0.00		0.05	0.05		
Li	TI	2.04 ± 2.99	1.32	2.75	>0.999	V *	0.05 ± 0.01	0.04	0.05	0.642
	TM	1.66 ± 1.37	1.32	2.99	0.05 ± 0.00		0.05	0.05		
	PM	1.94 ± 1.69	1.61	2.28	0.05 ± 0.01		0.05	0.06		

Table 2. Cont.

Element	Type of Milk	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value	Element	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value
			Lower	Upper				Lower	Upper	
Ni	TC	1.8 ± 0.00	1.80	1.80	>0.999	PM	1.89 ± 0.83	1.72	2.06	>0.999
	TI	2.18 ± 1.12	1.88	2.48			1.80			
	TM	2.35 ± 2.69	1.69	3.00			2.48			
							3.00			

Elements in bold and italic indicate the type of formula statistically significant. * Values below the detection limit. Ag, silver; Al, aluminium; As, arsenic; Ba, barium; Be, beryllium; Ca, calcium; Cd, cadmium; Co, cobalt; Cr, chromium; Cs, cesium; Cu, copper; Fe, iron; Ga, gallium; Hg, mercury; I, iodine; K, potassium; Li, lithium; Mg, magnesium; Mn, manganese; Mo, molybdenum; Na, sodium; Ni, nickel; P, phosphorus; PM, preterm milk; Pb, lead; Pt, platinum; Rb, rubidium; Sb, antimony; Se, selenium; Sr, strontium; Ti, titanium; Tl, thallium; Tl, full-term intermediate milk; Tl, thallium; TM, full-term mature milk; U, uranium; V, vanadium; Zn, zinc.



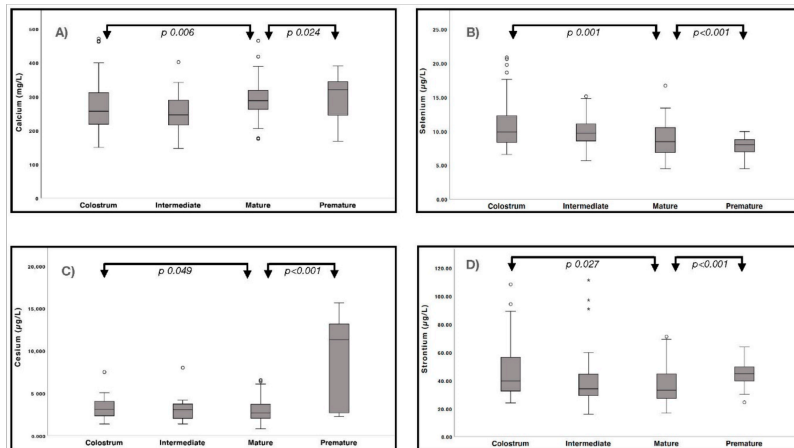


Figure 2. Box plots showing the distribution of calcium (A), selenium (B), cesium (C) and strontium (D) concentrations in human milk sampled from preterm mothers and from full-term mothers at three distinct stages of lactation. Box plots contains 50% of all values (25th to 75th percentile) with the median values indicated as a thick horizontal line. The whiskers represent the highest and lowest values, and the dots and asterisks the extreme values.

3.4. Associations with the Medical, Social, Environmental, and Demographic Variables

All participating mothers (70 full-term and 100 preterm delivery) completed a questionnaire, the responses to which were analyzed by multivariate analysis (Table 5). The results revealed a positive correlation between excessive body weight gain during pregnancy and HM concentrations of Na, Fe, and I ($p < 0.050$), and a negative correlation between birth weight and most essential ($n = 6$) and toxic elements ($n = 9$) ($p < 0.029$). Moreover, we observed significant positive correlations between HM concentrations of Ca and Na and gestational hypertension ($p \leq 0.024$), and between residence in urban environment and higher levels of As ($p = 0.013$). This examination also revealed a positive correlation between well-water consumption and HM concentrations of Na, Cu, Fe, Pb, and Ti ($p \leq 0.046$). Finally, there was a significant positive correlation between smoking and HM concentrations of Ba and Pb ($p < 0.050$).

Table 3. Concentration of trace elements in infant formula according to type of formula.

Element	Type of Formula	Mean \pm SD	Interval for Mean		p-Value	Element	Mean \pm SD	Interval for Mean		p-Value
			Lower	Upper				Lower	Upper	
Minerals (mg/L)										
Ca	SF	419.93 \pm 135	345.14	494.72	>0.999	Na	147.06 \pm 27	131.72	162.40	>0.999
	CF	417.62 \pm 30	391.96	443.28			161.12 \pm 12	150.49	171.75	
	HF	430.2 \pm 86	322.49	537.90			190.6 \pm 62	113.57	267.72	
	PF	509.5 \pm 64	393	626			218.5 \pm 54	180	257	
K	SF	473.06 \pm 43	448.92	497.21	>0.999	P	271.37 \pm 12	253.67	281.59	>0.999
	CF	443.87 \pm 9.26	436.12	451.62			284 \pm 56	261.15	288.77	
	HF	522.8 \pm 95	404.43	641.16			312 \pm 61	235.32	367	
	PF	518 \pm 49	432.28	662.71			319 \pm 67	271	381.59	
Mg	SF	50.46 \pm 7.21	46.46	54.46	>0.999					
	CF	53.12 \pm 15	40.36	65.88						
	HF	59.8 \pm 13	43.64	75.95						
	PF	67.5 \pm 7.77	62	73						
Essential trace elements (μg/L)										
Co	SF	0.25 \pm 0.13	0.17	0.33	<0.001	Mn	92.8 \pm 70	53.58	133.11	<0.001
	CF	0.25 \pm 0.10	0.16	0.34			57.35 \pm 27	34.27	80.43	
	HF	0.11 \pm 0.06	0.02	0.19			172.37 \pm 139	37.9	341.22	
	PF	0.71 \pm 0.52	0.34	1.08			60.19 \pm 26	31.37	79.02	
Cr	SF	2.71 \pm 0.99	2.16	3.26	<0.001	Mo	31.30 \pm 17	21.80	40.80	0.072
	CF	2.35 \pm 0.90	1.60	3.11			28.19 \pm 4.89	24.10	32.28	
	HF	5.40 \pm 3.9	0.54	10.27			21.12 \pm 12	5.72	36.52	
	PF	4.5 \pm 4.43	1.4	7.6			33.13 \pm 0.58	27.86	38.40	
Cu	SF	383.03 \pm 82	337.25	428.81	>0.999		18.58 \pm 4.74	15.95	21.21	>0.999
	CF	350.74 \pm 63	297.81	403.68		17.46 \pm 3.79	14.29	20.63		
	HF	397.33 \pm 66	314.82	479.84		21.02 \pm 3.96	16.10	25.94		
	PF	420.94 \pm 23	206.96	634.91		19.74 \pm 3.44	17.31	22.18		
Fe	SF	6069.33 \pm 1264	5369.12	6769.54	0.027	Zn	4647.53 \pm 888	4155.71	5139.35	>0.999
	CF	8925.65 \pm 503	8905.13	9346.36			4910.37 \pm 1070	4015.30	5805.44	
	HF	7280.2 \pm 1855	4939.29	9621.10			5045.8 \pm 1670	2970.98	7120.61	
	PF	6269 \pm 394	2793.26	9814.03			6708 \pm 748	6179	7237	

Table 3. Cont.

Element	Type of Formula	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value	Element	Mean ± SD	Interval for Mean		p-Value
			Lower	Upper				Lower	Upper	
I	SF	133.03 ± 34	114.05	152.00	>0.999					
	CF	156.36 ± 18	141.07	171.05						
	HF	140.07 ± 6.52	131.96	148.17						
	PF	163.26 ± 19	149.24	177.28						
Toxic trace elements (µg/L)										
Ag *	SF	0.10 ± 0.00	0.10	0.10	0.543	Pb	0.37 ± 0.13	0.29	0.44	>0.999
	CF	0.10 ± 0.00	0.10	0.10						
	HF	0.10 ± 0.00	0.10	0.10						
	PF	0.10 ± 0.00	0.10	0.10						
Al	SF	54.5 ± 27	39.20	69.79	>0.999	Pt *	0.12 ± 0.00	0.12	0.12	>0.999
	CF	47.07 ± 25	25.98	68.15						
	HF	60.81 ± 45	4.77	116.85						
	PF	37.44 ± 11	29.51	45.28						
As	SF	0.49 ± 0.13	0.41	0.56	>0.999	Rb	287.13 ± 137	210.92	363.33	>0.999
	CF	1.39 ± 2	0.4	3.07						
	HF	0.61 ± 0.42	0.08	1.14						
	PF	0.48 ± 0.12	0.4	0.57						
Ba *	SF	6.7 ± 0.00	6.7	6.7	>0.999	Sb	0.79 ± 0.69	0.41	1.18	0.017
	CF	6.7 ± 0.00	6.7	6.7						
	HF	6.7 ± 0.00	6.7	6.7						
	PF	6.7 ± 0.00	6.7	6.7						
Be	SF	15.68 ± 5.51	12.62	18.73	>0.999	Sn	3.96 ± 2.96	0.76	5.16	<0.001
	CF	17.15 ± 4.5	13.33	20.98						
	HF	12.75 ± 4.39	7.29	18.20						
	PF	14.73 ± 4.75	12.68	16.79						
Cd *	SF	0.06 ± 0.00	0.06	0.06	>0.999	Sr	145.86 ± 53	116.31	175.40	<0.001
	CF	0.06 ± 0.00	0.06	0.06						
	HF	0.06 ± 0.00	0.06	0.06						
	PF	0.06 ± 0.00	0.06	0.06						

Table 3. Cont.

Element	Type of Formula	Interval for Mean		Mean \pm SD	p-Value	Element	Interval for Mean		p-Value
		Lower	Upper				Lower	Upper	
Cs	SF	0.56	1.22	0.88 \pm 0.62			41.65	53.54	
	CF	0.58	0.98	0.78 \pm 0.23			38.57	52.70	
	HF	0.09	1.23	0.66 \pm 0.45	>0.999	Tl	20.52	73.80	>0.999
Ga	PF	0.17	0.48	0.32 \pm 0.21			44.46	77.44	
	SF	2.06	2.93	2.49 \pm 0.78			0.02	0.04	
	CF	1.90	2.83	2.37 \pm 0.55	0.438	Tl	0.02	0.04	>0.999
Hg	HF	0.93	3.52	2.23 \pm 1.04			0.006	0.06	
	PF	2.24	3.63	2.93 \pm 0.98			0.06	0.11	
	SF	0.49	1	0.78 \pm 0.45			0.37	0.004	
Li	CF	0.36	1.13	0.75 \pm 0.46	>0.999	U	0.21	0.19	0.074
	HF	0.33	0.89	0.60 \pm 0.21			0.2	1.88	
	PF	0.6	0.7	0.66 \pm 0.10			0.44	1.45	
Ni	SF	1.11	1.81	1.46 \pm 0.63			0.71	1.03	
	CF	0.97	2.07	1.52 \pm 0.65			1.43	2.25	
	HF	0.52	2.73	1.62 \pm 0.89	>0.999	V	0.79	11.24	0.019
Ni	PF	1.44	1.79	1.61 \pm 0.24			0.57	9.28	
	SF	3.05	8.37	5.71 \pm 4.79					
	CF	2.58	4.71	3.65 \pm 1.27					
Ni	HF	2.41	6.23	4.32 \pm 1.53	>0.999				
	PF	3.4	9.8	6.62 \pm 4.5					

Elements in bold and italic indicate the type of formula statistically significant. * Values below the detection limit. Ag, silver; Al, aluminum; As, arsenic; Ba, barium; Be, beryllium; Ca, calcium; Cd, cadmium; Cf, continuation formula; Co, cobalt; Cr, chromium; Cs, cesium; Cu, copper; Fe, iron; Ga, Gallium; HF, hydrolyzed formula; Hg, mercury; I, iodine; K, potassium; Li, lithium; Mg, magnesium; Mn, manganese; Mo, molybdenum; Na, sodium; Ni, nickel; P, phosphorus; Pb, lead; Pt, preterm formula; Pt, platinum; Sb, rubidium; Sb, antimony; Se, selenium; SF, starter formula; Sh, tin; Sr, strontium; T, titanium; Tl, thallium; U, uranium; V, vanadium; Zn, zinc.

Table 4. Differences in concentration of trace elements in human milk versus infant milk formula.

Element	SF vs. TM		HF vs. TM		PF vs. PM		Element		SF vs. TM		HF vs. TM		PF vs. PM	
	% Difference	p-Value	% Difference	p-Value	% Difference	p-Value	% Difference	p-Value	% Difference	p-Value	% Difference	p-Value	% Difference	p-Value
Ca	30	<0.001	32	<0.001	41	<0.001	Minerals (mg/dL)	Mg	24	<0.001	36	<0.001	44	<0.001
	26	<0.001	32	0.004	27	0.063								
Co	80	<0.001	45	0.062	90	<0.001	Essential trace elements (µg/L)							
	28	0.073	35	<0.001	16	0.534	Mo	96	<0.001	95.4	<0.001	97	<0.001	
	96	<0.001	97	<0.001	99	<0.001	Se	52	<0.001	57	<0.001	94	0.008	
	98	<0.001	98	<0.001	96	0.008	Zn	73	<0.001	75.4	<0.001	70.7	<0.001	
Al	86	<0.001	88	<0.001	78	<0.001	Toxic trace elements (µg/L)							
	43	<0.001	41	<0.001	42	<0.001	Sb	53	<0.001	52	<0.001	63	0.062	
	53	<0.001	46	0.634	36	0.084	Sn	72	0.001	58	<0.001	8	>0.999	
	58	<0.001	45.6	0.068	71	0.006	Sr	75	<0.001	72	<0.001	87	<0.001	
	-56	0.001	-54	<0.001	-78	0.001	U	98	<0.001	99	<0.001	99	<0.001	
							V	94	<0.001	62	<0.001	79	<0.001	

Al, aluminum; Be, beryllium; Ca, calcium; Co, cobalt; Cr, chromium; Fe, iron; HF, hydrolyzed infant formula; Hg, mercury; K, potassium; Mg, magnesium; Mn, manganese; Mo, molybdenum; Ni, nickel; PF, preterm formula milk; PM, preterm milk; Rb, rubidium; Sb, antimony; Se, selenium; SF, starter infant formula; Sn, tin; Sr, strontium; TM, full-term mature milk; U, uranium; V, vanadium; Zn, zinc.

Table 5. Linear regression to estimate absolute change in mean levels of trace elements in human milk according to medical, social, environmental, and demographic variables.

Element	Excessive Maternal Weight Gain during Pregnancy		Baby's Birth Body Weight		Gestational HT		Residence in Urban Area		Well Water Consumption		Smokers	
	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value
Ca	-0.06	>0.999	-0.20	<0.001	5.257	0.024	0.257	>0.999	0.016	>0.999	0.429	>0.999
Mg	-0.12	>0.999	-0.19	0.001	0.776	>0.999	0.776	>0.999	2.524	>0.999	0.921	>0.999
Na	0.11	0.049	-0.23	<0.001	11.397	0.001	0.397	>0.999	6.133	0.015	0.314	>0.999
					Minerals (mg/L)							
					Essential trace elements (µg/L)							
Co	-0.01	>0.999	-0.17	0.002	0.015	>0.999	0.015	>0.999	0.57	>0.999	2.43	>0.999
Cu	-0.07	>0.999	-0.21	<0.001	0.127	>0.999	0.127	>0.999	1.72	>0.999	0	>0.999
Cr	-0.06	>0.999	-0.01	>0.999	0.475	>0.999	0.475	>0.999	4.24	0.041	0.05	>0.999
Fe	0.11	0.048	-0.08	>0.999	3.035	>0.999	3.035	>0.999	5.8	0.017	0.06	>0.999
I	0.11	0.042	-0.22	<0.001	1.906	0.063	1.906	>0.999	1.50	>0.999	0.78	>0.999
Mo	-0.07	0.024	-0.17	0.002	0.008	>0.999	0.008	>0.999	2.64	>0.999	0.22	>0.999
Se	-0.18	0.002	-0.28	<0.001	-0.11	0.049	1.11	>0.999	1.58	0.058	0.61	0.483
Zn	-0.17	>0.999	-0.30	<0.001	2.183	>0.999	2.183	>0.999	1.65	>0.999	0.21	>0.999
					Toxic trace elements (µg/L)							
As	-0.05	>0.999	-0.24	<0.001	0.564	0.394	0.11	0.013	0.101	>0.999	0.558	>0.999
Ba	-0.01	>0.999	-0.04	>0.999	0.804	>0.999	0.804	>0.999	0	>0.999	7.96	0.049
Cs	-0.15	>0.999	-0.34	<0.001	0.502	>0.999	0.502	>0.999	0.71	>0.999	0.51	>0.999
Ga	-0.09	0.193	-0.14	0.016	3.75	0.047	0.75	>0.999	2.24	>0.999	0.025	>0.999
Hg	-0.12	0.032	-0.18	0.001	0.43	>0.999	0.43	>0.999	0.085	>0.999	2.42	0.094
Pb	-0.04	>0.999	0.45	<0.001	1.395	>0.999	1.395	0.075	3.674	0.046	9.61	0.024
Sb	0.002	>0.999	-0.16	0.006	0.178	>0.999	0.178	>0.999	1.37	0.057	0.453	>0.999
Sn	0.005	>0.999	0.17	0.004	1.224	0.082	1.224	>0.999	1.995	>0.999	0.188	>0.999
Str	-0.08	0.027	-0.20	0.001	5.126	0.021	0.126	>0.999	2.995	>0.999	0.5	>0.999
Ti	-0.06	>0.999	-0.13	0.029	5.27	0.025	0.025	>0.999	2.997	0.041	0.52	>0.999
V	-0.005	0.938	-0.26	<0.001	0.017	>0.999	0.017	>0.999	2.601	>0.999	0.653	0.827
Vl	-0.03	>0.999	-0.27	<0.001	7.865	0.002	0.865	0.628	1.358	>0.999	0.699	>0.999

As, arsenic; Ba, barium; Ca, calcium; Co, cobalt; Cr, chromium; Cs, cesium; Cu, copper; Fe, iron; Ga, gallium; Hg, mercury; I, iodine; Mg, magnesium; Mo, molybdenum; Na, sodium; Pb, lead; Sb, antimony; Se, selenium; Sn, tin; Sr, strontium; Ti, titanium; Tl, thallium; V, vanadium; Zn, zinc.

4. Discussion

4.1. Minerals and Essential Trace Elements

Our findings reveal a trend towards an increase in Ca concentrations between colostrum and mature milk, in agreement with the findings of Prentice and Barclay [23]. As previously reported by Atkinson et al. [24] and Schanler [25], Ca levels were higher in preterm versus mature full-term HM. Decreases in the concentrations of essential trace elements such as Cu, Mn, Mo, and Se were observed as lactation progressed, probably due to decreases in the levels of proteins in milk that serve as ligands of trace elements [26,27]. We also observed significant decreases in Cr, Fe, I, Se, and Zn concentrations in premature HM compared with mature full-term HM. This effect was particularly notable for Se, levels of which were lower than those reported in other studies [28,29]. This observation may be partially due to the low levels of Se in soil in Spain [30], the country of origin of the mothers participating in the study. In another study, two Portuguese selenium-rich regions and a control region in Yacucy state were compared. A significant increase in selenium was observed, from 42.9 µg/L for the control region in Yacucy to 56.6 and 112.2 µg/L for the two selenium-rich regions, values in all cases much higher than those found in our study and our country [31]. Reduced Se levels in HM could potentially adversely affect the functional activity of antioxidant selenoproteins, compromising protection against placental oxidative stress and detrimentally impacting fetal growth. In fact, Se deficiency has been associated with preeclampsia [32], preterm birth [33], and small for gestational age (SGA) infants [34]. Ustundag et al. reported significantly lower Zn levels in milk from mothers of preterm versus full-term babies [35]. Premature and SGA infants have higher essential micronutrient requirements due to their rapid postnatal growth and development and the limited capacity for storage of these elements [36]. These infants are therefore at increased risk of developing nutritional deficiencies.

We observed a correlation between excessive maternal weight gain during pregnancy and HM levels of Na, Fe, I, Mo, and Se. Regarding Fe and I, similar results were reported [37,38], with a positive association between HM levels and maternal weight. The higher HM levels of Na and Ca in mothers with gestational hypertension could be explained in a similar way to the increased levels of Na and Ca in mothers with arterial hypertension [39,40], as the higher the blood serum levels of Ca and Na in the mothers, the higher the levels of these elements in the breast milk. We observed no significant association between the levels of essential trace elements and area of residence, urban or rural, in line with the findings of Domellöf et al. [41]. The consistency of trace element concentrations across populations, despite geographic and lifestyle-related variations, likely reflects the importance of these trace elements for proper development and function, and common physiological mechanisms to maintain levels adequate for the infant.

As expected, our analyses of IF showed increases in Fe content in continuation IF. The AAP Committee on Nutrition has strongly advocated Fe fortification of IF as a means of reducing the prevalence of anemia and concomitant sequelae during the first year of life [42]. Essential trace elements, in particular Fe and Zn, are found at concentrations 15–50 times higher in IF than HM, as the formulation of IF must take into account losses that occur during production and storage, with the bioavailability of essential trace elements being much lower than in breast milk [13].

4.2. Toxic Trace Elements

Our analyses include the first reported quantification of the levels of Tl in HM, which revealed a mean concentration of 0.04 ± 0.01 µg/L in mature HM. Tl is a highly toxic metal that is also found naturally in the environment, and therefore can contaminate water and food [43]. To date, no tolerable daily intake has been defined.

The concentrations of toxic metals such as Cs, Pt, Sn, and Sr decreased significantly in mature HM. The basis for this observation remains unclear, although HM proteins have a high capacity for binding toxic metals, being highest in colostrum.

Previous studies have reported that exposure of the mother to Cd may increase the likelihood of preterm delivery and, consequently, low birth weight [44]. Significantly higher levels of Hg have been reported in HM from mothers of preterm babies compared with full-term HM [45]. These observations are in agreement with the findings in our study population, in which Cd, Cs, Ga, Hg, Sb, Sr, and Ti concentrations were higher in HM from mothers of preterm babies compared with full-term HM; in addition, this is the first time that Sr levels were analyzed in premature HM. Notably, we found that Cs levels in preterm HM were up to two times higher than those reported in previous studies [46]. Chronic Cs ingestion has been found to cause heart failure [47]. In their analysis of bone biopsy samples, D'Haese et al. found that Sr levels were increased in patients with osteomalacia [48]. Moreover, rickets is a major problem in premature and SGA infants, suggesting a potential association with the high levels of Sr in HM consumed by these infants. However, there is little information available about the toxic effects of Sr. Cs and Sr have been distributed in the environment due to nuclear weapons testing, nuclear power production and nuclear accidents. These radionuclides are of particular concern as they are readily incorporated into biological systems due to their chemical similarity to the biologically essential elements K in the case of Cs and Ca in the case of Sr. In the long term, Cs and Sr mainly enter the human food chain by consumption of plants grown on contaminated soils or products from animals fed on contaminated fodder [49]. Although preliminary determinations had shown that contamination levels in human milk were minimal, concentrations from 1 to 5 µg/L have been described for Cs [50] and 44–46 µg/L for Sr [51].

We observed an association between higher HM concentrations of As and residence in an urban area. This could be explained by an increase in the availability of As in food, water, and air caused by industrial activities. Rahimi et al. [52] reported significant increases in Pb concentrations in HM from mothers exposed to smoking, in line with the present findings. Furthermore, studies have reported higher mean Pb levels in drinking groundwater than drinking surface water [53]. In certain areas, water pipes may still be jointed with Pb solder, and lead-lined storage tanks are common in houses [54]. These observations may at least partially explain the higher Pb concentration detected in HM from mothers that consumed well water.

Our analyses of commercial IF samples revealed high toxic trace elements, in particular Al. This finding is in line with those previously reported by our group [55]. Specifically, we reported levels of Al in hydrolyzed IF that were higher than those in other types of IF, although within the limits recommended by ESPGHAN. Al content of IF is 5–8 times higher than that of HM, a factor that contributes significantly to the body burden of Al in infants. Al has long been implicated in the etiology of Alzheimer disease (AD) [56]. Specifically, pathological concentrations of Al in the brain (>2.00 µg/g dry weight) contribute to earlier and more aggressive AD [57]. Compared with HM, we also found high levels of U and V in IF, and elevated vanadium levels are related to intestinal disorders [58].

The present study is the first to quantify levels of Ga, Li, Tl and U in IF, and revealed significantly higher U concentrations compared with HM. The main adverse health effects of U exposure are usually due to its significant chemical toxicity, which can affect neurological and reproductive systems [59]. Even though there are no significant differences with HM concentration, Ga and Tl are extensively used in advanced industries and are considered as toxic to humans. There is a growing concern about the potential release of these materials into the environment leading to effects on public and environmental health. So far, a tolerable daily (or weekly) intake has not been derived. Human exposure can take different routes: oral, by ingestion of contaminated food; dermal; or respiratory, by inhalation of dust and fumes. The most prominent feature of Tl poisoning is hair loss or alopecia [43]. Other symptoms, such as gastrointestinal disturbances, high blood pressure, rapid heart rate, and persistent weakness, are possible consequences of poisoning by these elements [60].

It is clear that the presence of toxic elements in IF accounts for a significant component of early life exposure to this contaminant, and every effort should be made by manufacturers to reduce the concentrations of these products to an achievable practical minimum.

Some limitations of the present study should be noted. The smaller sample size of the IF, compared with HM, makes it difficult to draw meaningful conclusions from the results obtained. The concentration of the trace elements of interest was not measured in maternal serum and maternal diets were not thoroughly analyzed. Ideally, follow-up of the infants fed with the HM and IF analyzed in this study should be performed to determine possible long-term consequences. The main strength of this study is the evaluation of the micronutrients composition of HM and the simultaneous assessment of the influence of mother and baby-related variables. Moreover, our analysis of trace element concentrations in IF allowed for comparison with concentrations reported by the respective manufacturers and recommended values by international standards.

5. Conclusions

We report for the first time the concentrations of Tl in HM and IF; and Ga, Li, and U in IF. We found Se levels in HM are below those recommended, and were associated with low birth weight, and being at risk of nutritional deficiencies. Furthermore, we observed significant increases of the concentration of the toxic trace element Cs, levels of which were double those recommended, and report for the first time the concentration of preterm HM of Sr. Our data highlight the potential influence of environmental factors on the concentrations of toxic trace elements in HM, demonstrating significant associations between As levels and residence in an urban area, and between Pb levels and both smoking and the consumption of well water. Finally, our analyses of IF indicate higher levels of Al, V, and U than found in HM. These results underscore the importance of reducing the concentrations of these toxins in IF to avoid long-term health consequences for infants.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu13061885/s1>, Table S1: Configuration ICP-MS and ICP-OES spectrometers; Table S2: Concentrations of trace elements detected in human milk: comparison with range recommended by AAP; Table S3: Concentrations of trace elements detected in infant milk formula: comparison with range recommended by ESPGHAN; Table S4: Concentrations of trace elements detected in infant milk formula: comparison with manufacturer-reported concentrations.

Author Contributions: N.M. and O.L.-S. designed the data collection instruments, collected data, drafted the initial manuscript, and revised the manuscript. P.B.-B. and P.H. designed the data collection instruments, carried out the initial analyses, and reviewed and revised the manuscript. J.M.F. conceptualized and designed the study and reviewed and revised the manuscript. C.F.-P. carried out the statistic analyses and reviewed and revised the manuscript. M.L.C. designed the study, supervised data collection, and critically reviewed the manuscript for important intellectual content. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by Research Ethics Committees of Galicia (2017/082).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Ljung, K.; Palm, B.; Grandér, M.; Vahter, M. High concentrations of essential and toxic elements in infant formula and infant foods—A matter of concern. *Food Chem.* **2011**, *127*, 943–951. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. ESPGHAN Committee on Nutrition; Agostoni, C.; Braegger, C.; Decsi, T.; Kolacek, S.; Koletzko, B.; Michaelsen, K.F.; Mihatsch, W.; Moreno, L.A.; Puntis, J.; et al. Breast-feeding: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2009**, *49*, 112–125. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Lönnnerdal, B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* **2003**, *77*, 1537S–1543S. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

4. Leon-Cava, N.; Lutter, C.; Ross, J.; Martin, L. *Quantifying the Benefits of Breastfeeding: A Summary of the Evidence*; Pan American Health Organization: Washington, DC, USA, 2002.
5. Isaacs, E.B.; Morley, R.; Lucas, A. Early Diet and General Cognitive Outcome at Adolescence in Children Born at or Below 30 Weeks Gestation. *J. Pediatr.* **2009**, *155*, 229–234. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Quinn, E.A. Too much of a good thing: Evolutionary perspectives on infant formula fortification in the United States and its effects on infant health. *Am. J. Hum. Biol.* **2014**, *26*, 10–17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. O’Neal, S.L.; Zheng, W. Manganese Toxicity Upon Overexposure: A Decade in Review. *Curr. Environ. Health Rep.* **2015**, *2*, 315–328. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Ballard, O.; Morrow, A.L. Human milk composition: Nutrients and bioactive factors. *Pediatr. Clin. N. Am.* **2013**, *60*, 49–74. [[CrossRef](#)]
9. Li, C.; Solomons, N.W.; Scott, M.; Koski, K.G. Minerals and Trace Elements in Human Breast Milk Are Associated with Guatemalan Infant Anthropometric Outcomes within the First 6 Months. *J. Nutr.* **2016**, *146*, 2067–2074. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Hojsak, I.; Bronsky, J.; Campoy, C.; Domellöf, M.; Embleton, N.; Mis, N.F.; Hulst, J.; Indrio, F.; Lapillonne, A.; Mølgaard, C.; et al. Young Child Formula: A Position Paper by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2018**, *66*, 177–185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Trace Elements. In *Pediatric Nutrition*, 8th ed.; Kleinman, R.E., Greer, F.R., Eds.; American Academy of Pediatrics: Itasca, IL, USA, 2019.
12. Bailey, R.L.; West, K.P., Jr.; Black, R.E. The Epidemiology of Global Micronutrient Deficiencies. *Annu. Nutr. Metab.* **2015**, *66* (Suppl. S2), 22–33. [[CrossRef](#)]
13. Molska, A.; Gutowska, I.; Baranowska-Bosiacka, I.; Nocen, I.; Chlubek, D. The content of elements in infant formulas and drinks against mineral requirements of children. *Biol. Trace Elem. Res.* **2014**, *158*, 422–427. [[CrossRef](#)]
14. Solomon, G.M.; Weiss, P.M. Chemical contaminants in breast milk: Time trends and regional variability. *Environ. Health Perspect.* **2002**, *110*, A339–A347. [[CrossRef](#)]
15. Friel, J.K.; Andrews, W.L.; Jackson, S.E.; Longerich, H.P.; Mercer, C.; McDonald, A.; Dawson, B.; Sutradhar, B. Elemental composition of human milk from mothers of premature and full-term infants during the first 3 months of lactation. *Biol. Trace Elem. Res.* **1999**, *67*, 225–247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Hallen, I.; Jorhem, L.; Lagerkvist, B.; Oskarsson, A. Lead and cadmium levels in human milk and blood. *Sci. Total Environ.* **1995**, *166*, 149–155. [[CrossRef](#)]
17. Qian, J.; Chen, T.; Lu, W.; Wu, S.; Zhu, J. Breast milk macro- and micronutrient composition in lactating mothers from suburban and urban Shanghai. *J. Paediatr. Child Health* **2010**, *46*, 115–120. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Wappelhorst, O.; Kühn, I.; Heidenreich, H.; Markert, B. Transfer of selected elements from food into human milk. *Nutrition* **2002**, *18*, 316–322. [[CrossRef](#)]
19. Yamawaki, N.; Yamada, M.; Kan-No, T.; Kojima, T.; Kaneko, T.; Yonekubo, A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2005**, *19*, 171–181. [[CrossRef](#)]
20. Leotsinidis, M.; Alexopoulos, A.; Kostopoulou-Farri, E. Toxic and essential trace elements in human milk from Greek lactating women: Association with dietary habits and other factors. *Chemosphere* **2005**, *61*, 238–247. [[CrossRef](#)]
21. Kominarek, M.A.; Peaceman, A.M. Gestational weight gain. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2017**, *217*, 642–651. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Mohd-Taufek, N.; Cartwright, D.; Davies, M.; Hewavitharana, A.K.; Koorts, P.; Shaw, P.N.; Sumner, R.; Lee, E.; Whitfield, K. The Simultaneous Analysis of Eight Essential Trace Elements in Human Milk by ICP-MS. *Food Anal. Methods* **2016**, *9*, 2068–2075. [[CrossRef](#)]
23. Prentice, A.; Barclay, D.V. Breast-milk calcium and phosphorus concentrations of mothers in rural Zaire. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1991**, *45*, 611–617.
24. Atkinson, S.; Radde, I.; Chance, G.; Bryan, M.; Anderson, G.H. Macro-mineral content of milk obtained during early lactation from mothers of premature infants. *Early Hum. Dev.* **1980**, *4*, 5–14. [[CrossRef](#)]
25. Schanler, R.J.; William, O.H. Composition of breast milk obtained from mothers of premature infants as compared to breast milk obtained from donors. *J. Pediatr.* **1980**, *96*, 679–681. [[CrossRef](#)]
26. Hannan, M.A.; Dogadkin, N.N.; Ashur, I.A.; Markus, W.M. Copper, Selenium, and Zinc Concentrations in Human Milk During the First Three Weeks of Lactation. *Biol. Trace Elem. Res.* **2005**, *107*, 011–020. [[CrossRef](#)]
27. Wasowicz, W.; Gromadzinska, J.; Szram, K.; Rydzynski, K.; Cieslak, J.; Pietrzak, Z. Selenium, Zinc, and Copper Concentrations in the Blood and Milk of Lactating Women. *Biol. Trace Elem. Res.* **2001**, *79*, 221–233. [[CrossRef](#)]
28. Navarro-Blasco, I.; Alvarez-Galindo, J. Selenium content of Spanish infant formulae and human milk: Influence of protein matrix, interactions with other trace elements and estimation of dietary intake by infants. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2004**, *17*, 277–289. [[CrossRef](#)]
29. Cervilla, J.R.; Fernandez Lorenzo, J.R.; Gil Calvo, M.; Fraga, J.M. Daily intakes and selenium concentration in serum of infants in relation to different types of dietary milk in Spain. In *Proceedings of the Selenium-Tellurium Development Association, Fifth International Symposium, Brussels, Belgium, 8–10 May 1994*; Carapella, S.C., Oldfield, J.F., Palmieri, Y., Eds.; Selenium-Tellurium Development Association: Grimbergen, Belgium, 1994; pp. 355–356.
30. Garrido, F.J.L.-B.; Bellido, L.L. Selenium and health: reference values and current status of Spanish population. *Nutr. Hosp.* **2013**, *28*, 1396–1406.

31. Brätter, P.; De Brätter, V.N.; Recknagel, S.; Brunetto, M.D.R. Maternal Selenium Status Influences the Concentration and Binding Pattern of Zinc in Human Milk. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **1997**, *11*, 203–209. [[CrossRef](#)]
32. Mistry, H.D.; Wilson, V.; Ramsay, M.M.; Symonds, M.E.; Pipkin, F.B. Reduced Selenium Concentrations and Glutathione Peroxidase Activity in Preeclamptic Pregnancies. *Hypertension* **2008**, *52*, 881–888. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Dobrzynski, W.; Szymanski, W.; Zachara, B.A.; Trafikowska, U.; Trafikowska, A.; Pilecki, A. Decreased selenium concentration in maternal and cord blood in preterm compared with term delivery. *Analyst* **1998**, *123*, 93–97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Klapeč, T.; Cavar, S.; Kasač, Z.; Ručević, S.; Popinjac, A. Selenium in placenta predicts birth weight in normal but not intrauterine growth restriction pregnancy. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2008**, *22*, 54–58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Ustundag, B.; Yilmaz, E.; Dogan, Y.; Akarsu, S.; Canatan, H.; Halifeoglu, I.; Cikim, G.; Aygun, A.D. Levels of Cytokines (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α) and Trace Elements (Zn, Cu) in Breast Milk From Mothers of Preterm and Term Infants. *Mediat. Inflamm.* **2005**, *2005*, 331–336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Harding, J.; Cormack, B.; Alexander, T.; Alsweiler, J.M.; Bloomfield, F.H. Advances in nutrition of the newborn infant. *Lancet* **2017**, *389*, 1660–1668. [[CrossRef](#)]
37. Nikniaz, L.; Mahdavi, R.; Gargari, B.P.; Magami, S.J.G.; Nikniaz, Z. Maternal Body Mass Index, Dietary Intake and Socioeconomic Status: Differential Effects on Breast Milk Zinc, Copper and Iron Content. *Health Promot. Perspect.* **2011**, *1*, 140–146. [[PubMed](#)]
38. Dumrongwongsiri, O.; Chatvutinin, S.; Phoonlabdacha, P.; Sangcakul, A.; Chailurkit, L.-O.; Siripinyanon, A.; Suthuvoravut, U.; Chongviriyaphan, N. High Urinary Iodine Concentration among Breastfed Infants and the Factors Associated with Iodine Content in Breast Milk. *Biol. Trace Elem. Res.* **2018**, *186*, 106–113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Grillo, A.; Salvi, L.; Coruzzi, P.; Salvi, P.; Parati, G. Sodium Intake and Hypertension. *Nutrients* **2019**, *11*, 1970. [[CrossRef](#)]
40. Bianchi, G.; Cusi, D.; Vezzoli, G. Role of cellular sodium and calcium metabolism in the pathogenesis of essential hypertension. *Semin. Nephrol.* **1988**, *8*, 110–119.
41. Domellöf, M.; Lönnnerdal, B.; Dewey, K.G.; Cohen, R.J.; Hernell, O. Iron, zinc, and copper concentrations in breast milk are independent of maternal mineral status. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *79*, 111–115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Committee on Nutrition. Iron fortification of infant formulas. American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. *Pediatrics* **1999**, *104*, 119–123. [[CrossRef](#)]
43. Léonard, A.; Gerber, G.B. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of thallium compounds. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* **1997**, *387*, 47–53. [[CrossRef](#)]
44. Nishijo, M.; Nakagawa, H.; Honda, R.; Tanebe, K.; Saito, S.; Teranishi, H.; Tawara, K. Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy outcome and breast milk * COMMENTARY. *Occup. Environ. Med.* **2002**, *59*, 394–397. [[CrossRef](#)]
45. Gundacker, C.; Pietschnig, B.; Wittmann, K.J.; Lischka, A.; Salzer, H.; Hohenauer, L.; Schuster, E. Lead and Mercury in Breast Milk. *Pediatrics* **2002**, *110*, 873–878. [[CrossRef](#)]
46. Press, N.A. Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2001.
47. O'Brien, C.E.; Harik, N.; James, L.P.; Seib, P.M.; Stowe, C.D. Cesium-Induced QT-Interval Prolongation in an Adolescent. *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* **2008**, *28*, 1059–1065. [[CrossRef](#)]
48. D'Haese, P.C.; Couttenye, M.; Lamberts, L.V.; Elseviers, M.M.; Goodman, W.G.; Schrooten, I.; Cabrera, W.E.; De Broe, M.E. Aluminium, Iron, Lead, Cadmium, Copper, Zinc, Chromium, Magnesium, Strontium, and Calcium Content in Bone of End-Stage Renal Failure Patients. *Clin. Chem.* **1999**, *45*, 1548–1556. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Broadley, M.R.; White, P.J. Some elements are more equal than others: Soil-to-plant transfer of radiocaesium and radiostrotrium, revisited. *Plant Soil* **2012**, *355*, 23–27. [[CrossRef](#)]
50. Gattavecchia, E.; Ghini, S.; Tonelli, D.; Gori, G.; Cama, G.; Guerresi, E. Cesium-137 levels in breast milk and placenta after fallout from the reactor accident at Chernobyl. *Health Phys.* **1989**, *56*, 245–248.
51. Shagina, N.B.; Tolstykh, E.I.; Fell, T.P.; Smith, T.J.; Harrison, J.D.; Degteva, M.O. Strontium biokinetic model for the lactating woman and transfer to breast milk: Application to Techa River studies. *J. Radiol. Prot.* **2015**, *35*, 677–694. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Rahimi, E.; Hashemi, M.; Baghbadorani, Z.T. Determination of cadmium and lead in human milk. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2009**, *6*, 671–676. [[CrossRef](#)]
53. Gulson, B.L.; Jameson, C.W.; Mahaffey, K.R.; Mizon, K.J.; Patison, N.; Law, A.J.; Korsch, M.J.; Salter, M.A. Relationships of lead in breast milk to lead in blood, urine, and diet of the infant and mother. *Environ. Health Perspect.* **1998**, *106*, 667–674. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Kwapuliński, J.; Wiechuła, D.; Fischer, A. The influence of smoking and passive smoking to occurrence of metals in breast milk. *Prz. Lek.* **2004**, *61*, 1113–1115.
55. Fernández-Lorenzo, J.R.; Cocho, J.A.; Rey-Goldar, M.L.; Couce, M.; Fraga, J.M. Aluminum contents of human milk, cow's milk, and infant formulas. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **1999**, *28*, 270–275. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Exley, C. What is the risk of aluminium as a neurotoxin? *Expert Rev. Neurother.* **2014**, *14*, 589–591. [[CrossRef](#)]
57. Exley, C.; Vickers, T. Elevated brain aluminium and early onset Alzheimer's disease in an individual occupationally exposed to aluminium: A case report. *J. Med. Case Rep.* **2014**, *8*, 41. [[CrossRef](#)]
58. World Health Organization. *International Atomic Energy Agency & Food and Agriculture Organization of the United Nations; Trace Elements in Human Nutrition and Health*; Geneva, Switzerland, 1996.

59. Leuraud, K.; Schnelzer, M.; Tomasek, L.; Hunter, N.; Timarche, M.; Grosche, B.; Kreuzer, M.; Laurier, D. Radon, smoking and lung cancer risk: Results of a joint analysis of three European case-control studies among uranium miners. *Radiat. Res.* **2011**, *176*, 375–387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Nguyen, C.H.; Field, J.A.; Sierra-Alvarez, R. Microbial toxicity of gallium- and indium-based oxide and arsenide nanoparticles. *J. Environ. Sci. Health Part A* **2019**, *55*, 168–178. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]





8. BIBLIOGRAFÍA:

- 1 Ljung K, Palm B, Grandér M et al. High concentrations of essential and toxic elements in infant formula and infant foods- a matter of concern. *Food Chem* 2011; 127:943–951.
- 2 Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP. et al. ESPGHAN Committee on Nutrition: Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 2010; 50:85–91.
- 3 Bauer J, Gerss J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants. *Clin Nutr* 2011; 30:215–220.
- 4 Geraghty SR, Davidson BS, Warner BB et al. The development of a research human milk bank. *J Hum Lact.* 2005; 21:59–66.
- 5 Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K et al. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr.* 2012; 96:544–551.
- 6 Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013; 60:49-74
- 7 Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, Morrow AL. Human milk glycans protect infants against enteric pathogens. *Annu Rev Nutr.* 2005; 25:37–58.
- 8 Kent JC, Mitoulas LR, Cregan MD et al. Volume and frequency of breastfeedings and fat content of breast milk throughout the day. *Pediatrics.* 2006; 117:387–395.
- 9 Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ et al. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53:457–465.

- 10 Valentine CJ, Morrow G, Pennell M et al. Randomized Controlled Trial of Docosahexaenoic Acid Supplementation in Midwestern U.S. Human Milk Donors. *Breastfeed Med.* 2013; 8:86-91.
- 11 Gao X, McMahon RJ, Woo JG et al. Temporal changes in milk proteomes reveal developing milk functions. *J Proteome Res.* 2012; 11:3897–3907.
- 12 Lönnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77:1537-1543.
- 13 Bailey RL, West KP, Black RE. The epidemiology of global micronutrient deficiencies. *Ann Nutr Metab.* 2015; 66:22-33.
- 14 Quinn EA. Too much of a good thing: an evolutionary argument for decreased iron fortification of infant formula in the United States. *Am J Hum Biol.* 2014; 26:10-17.
- 15 O'Neal SL, Zheng W. Manganese toxicity upon overexposure: a decade in review. *Curr Environ Health Rep.* 2015; 2:315-328.
- 16 Panczenko-Kresowska B, Ziemlański S. Mineral elements—their importance in human nutrition. *Standards of human nutrition. Physiological basis.* Warszawa, Poland: PZWL; 2001. pp. 309–410.
- 17 Solomon G, Weiss P. Chemical Contaminants in Breast Milk: Time Trends and Regional Variability. *Environ Health Perspect.* 2002; 110: 339-347.
- 18 Weidenhamer JD, Fitzpatrick MP, Biro AM, et al. Metal exposures from aluminum cookware: An unrecognized public health risk in developing countries. *Sci Total Environ.* 2017; 579: 805-813.
- 19 Cao J, Xu X, Hylkema M et al. Early-life exposure to widespread environmental toxicants and health risk: A focus on the immune and respiratory systems. *Ann Glob Health.* 2016; 82:119-131.
- 20 Al-Saleh I, Shinwari N, Mashhour A et al. Heavy metals (lead, cadmium and mercury) in maternal, cord blood and placenta of healthy women. *Int J Hyg Environ Health.* 2011; 214:79-101.
- 21 Ostrowski SR, Wilbur S, Chou CH, et al. Agency for Toxic Substances and Disease Registry's 1997 priority list of hazardous substances. Latent effects--carcinogenesis, neurotoxicology, and

- developmental deficits in humans and animals. *Toxicol Ind Health*. 1999; 15:602-644
- 22 Isaac CP, Sivakumar A, Kumar CR. Lead levels in breast milk, blood plasma and intelligence quotient: a health hazard for women and infants. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2012; 88:145-149.
 - 23 IPCS (International Programme on Chemical Safety). Inorganic Lead. *Environmental Health Criteria* 165. Geneva: World Health Organization; 1995.
 - 24 Friel JK, Andrews WL, Jackson SE et al. Elemental composition of human milk from mothers of premature and full-term infants during the first 3 months of lactation. *Biol Trace Elem Res*. 1999; 67:225-247.
 - 25 Hallen IP, Jorhem L, Lagerkvist BJ et al. Lead and cadmium levels in human milk and blood. *Sci Total Environ*. 1995; 166:149–155.
 - 26 Isumura N, Inamo Y, Okazaki F et al. Compound heterozygous mutations in *SLC30A2/ZnT2* results in low milk zinc concentrations: a novel mechanism for zinc deficiency in a breast-fed infant. *PLoS One*. 2013; 8:640-645.
 - 27 Oskarsson A, Palminger Hallén I, Sundberg J et al. Risk assessment in relation to neonatal metal exposure. *Analyst*. 1998; 123:19-23.
 - 28 Bressler JP, Olivi L, Cheong JH et al. Metal transports in intestine and brain: the involvement in metal-associated neuro toxicity. *Hum. Exp. Toxicol*. 2007; 26:221–229.
 - 29 Gertosio C, Meazza C, Pagani S et al. Breastfeeding and its gamut of benefits. *Minerva Pediatr*. 2016; 68:201-212.
 - 30 Khan MN, Islam MM. Effect of exclusive breastfeeding on selected adverse health and nutritional outcomes: a nationally representative study. *BMC Public Health*. 2017; 17:889.
 - 31 Hanson LA, Korotkova M. The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection. *Semin Neonatol*. 2002; 7:275-281.

- 32 Järvinen KM, Martin H, Oyoshi MK. Immunomodulatory effects of breast milk on food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2019; 123:133-143
- 33 Gdalevich M, Mimouni D, Mimouni M. Breast-feeding and the risk of bronchial asthma in childhood: a systemic review with meta-analysis of prospective studies. *J Pediatr.* 2001; 139:261-266.
- 34 Anderson JW, Johnstone BM, Remley DT. Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70:525-535.
- 35 Grummer-Strawn LM, Mei Z. Does breastfeeding protect against pediatric overweight? Analysis of longitudinal data from the Centers for Disease Control and Prevention Pediatric Nutrition Surveillance system. *Pediatrics.* 2004; 113:81.
- 36 Wilson AC, Forsyth JS, Greene SA et al. Relation of infant diet to childhood health: seven-year follow-up of cohort of children in Dundee infant feeding study. *BMJ.* 1998; 316:21-25.
- 37 Ip S, Chung M, Raman G et al. New England Medical Center Evidence-based Practice Center. Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries. *Evid Rep Technol Assess.* 2007; 153:1–186.
- 38 Canadian Institute of Child Health. National Breastfeeding Guidelines for Health Care Providers. Canadian Institute of Child Health, Ottawa, 1996, pp. 1-79.
- 39 Goldman AS. Risk of transmission of human immunodeficiency virus via breastfeeding. *ABM News and Views.* 2000; 6:1.
- 40 Becquet R, Bland R, Leroy V et al. Duration, pattern of breastfeeding and postnatal transmission of HIV: pooled analysis of individual data from West and South African Cohorts. *PLoS One.* 2009; 4:73-97.
- 41 Hino S, Katamine S, Miyata H et al. Primary prevention of HTLV-1 in Japan. *Leukemia.* 1997; 11:57-59.
- 42 American Academy of Paediatrics. Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* 2012; 129:827-841.

- 43 Sauer PJ. Can extrauterine growth approximate intrauterine growth? Should it? *Am J Clin Nutr.* 2007; 85:608-613.
- 44 Verduci E, Gianni ML, Di Benedetto A. Human Milk Feeding in Preterm Infants: What Has Been Done and What Is to Be Done. *Nutrients.* 2019; 12:44.
- 45 Ruhaak LR, Lebrilla CB. Advances in analysis of human milk oligosaccharides. *Adv Nutr.* 2012; 3:406-414.
- 46 Arslanoglu S, Moro GE, Ziegler EE. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: does it make a difference? *J Perinatol.* 2006; 26:614-621.
- 47 Rochow N, Jochum F, Redlich A et al. Fortification of breast milk in VLBW infants: metabolic acidosis is linked to the composition of fortifiers and alters weight gain and bone mineralization. *Clin Nutr.* 2011; 30:99-105.
- 48 Quigley MA, Henderson G, Anthony MY et al. Formula milk versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 :29-71.
- 49 Dogaru CM, Nyffenegger D, Pescatore AM et al. Breastfeeding and childhood asthma: systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2014; 179:1153-1167.
- 50 Spiegler J, Preuß M, Gebauer C et al. German Neonatal Network (GNN); German Neonatal Network GNN. Does Breastmilk Influence the Development of Bronchopulmonary Dysplasia? *J Pediatr.* 2016; 169:76-80.
- 51 Bharwani SK, Green BF, Pezzullo JC et al. Systematic review and meta-analysis of human milk intake and retinopathy of prematurity: a significant update. *J Perinatol.* 2016; 36:913-920.
- 52 Boyd CA, Quigley MA, Brocklehurst P. Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 2007; 92:169–175.
- 53 Ohlsson A, Jacobs SE. NIDCAP: a systematic review and meta-analyses of randomized controlled trials. *Pediatrics.* 2013; 131:881-893.
- 54 Ewaschuk JB, Unger S, Harvey S et al. Effect of pasteurization on immune components of milk: implications for feeding preterm infants. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2011; 36:175-182.

- 55 Coscia A, Peila C, Bertino E et al. Effect of Holder pasteurisation on human milk glycosaminoglycans. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 60:127–130.
- 56 U.S. Food and Drug Administration Guidance for Industry. Demonstration of the Quality Factor Requirements Under 21 CFR 106.96 (i) for “Eligible Infant Formulas”. June 2014
- 57 Lönnerdal B. Preclinical assessment of infant formula. *Ann Nutr Metab.* 2012; 60:196-199.
- 58 Koletzko B, Baker S, Cleghorn G et al. Global standard for the composition of infant formula: Recommendations of an ESPGHAN coordinated international expert group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 41:584–599.
- 59 Wappelhorst O, Kuhn I, Heidenreich H et al. Transfer of selected elements from food into human milk. *Nutrition.* 2002, 18:316–322.
- 60 Yamawaki N, Yamada M, Kan-no T et al. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *J Trace Elem Med Biol.* 2005, 19:171–181.
- 61 Leotsinidis M, Alexopoulos A, Kostopoulou-Farri E. Toxic and essential trace elements in human milk from Greek lactating women: association with dietary habits and other factors. *Chemosphere.* 2005, 61:238–247.
- 62 Koletzko B, Beyer J, Brands B et al. European Childhood Obesity Trial Study Group. Early influences of nutrition on postnatal growth. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2013; 71:11-27
- 63 Michaelsen KF, Greer FR. Protein needs early in life and long-term health. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99:718-722.
- 64 Picciano MF. Nutrient composition of human milk. *Pediatr Clin North Am.* 2001; 48:53-67.
- 65 Pallás Alonso CR, Grupo PrevInfad/PAPPS Infancia y Adolescencia. Preventive and health promotion activities for premature children less than 32 weeks of gestational age or less than 1500 g. From discharge from hospital to seven years of age (1st part). *Rev Pediatr Aten Primaria.* 2012; 14:153-166.
- 66 Aras NK, Ataman OY. Trace Element Analysis of Food and Diet. *RSC Publishing.* 2006; 70:525-535

- 67 Thomas R. *Practical Guide to ICP-MS. A Tutorial for Beginners.* CRC Press, Boca Raton. 2008
- 68 Astolfi ML, Marconi E, Protano C et al. Optimization and validation of a fast digestion method for the determination of major and trace elements in breast milk by ICP-MS. *Anal Chim Acta.* 2018; 1040:49-62.
- 69 Guthrie HA. Infant feeding practices, a predisposing factor in hypertension?. *Am J Clin Nutr.* 1968; 21: 863-867.
- 70 Lai CT, Gardner H, Geddes D. Comparison of Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry with an Ion Selective Electrode to Determine Sodium and Potassium Levels in Human Milk. *Nutrients.* 2018; 10:1218.
- 71 Flores-Quijano ME, Cordova A, Contreras- Ramirez V et al. Risk for postpartum depression, breastfeeding practices, and mammary gland permeability. *J Hum Lact.* 2008; 24:50–57.
- 72 Murase M, Wagner EA, Chantry CJ et al. The relation between breast milk sodium to potassium ratio and maternal report of a milk supply concern. *J Pediatr.* 2017; 181:294–297.
- 73 Webb BH, Johnson AH, Alford JH. *Fundamentals of Dairy Chemistry,* Westport, CT: AVI Press. 1974; 153:1–186.
- 74 Fransson GB, Lonnerdal B. Distribution of trace elements and minerals in human and cow's milk. *Pediatr Res.* 1983; 17: 912-916.
- 75 Poiffait A, Adrian J. Composition minérale du lait maternel. 1-macro-éléments. *Méd et Nut.* 1993; 29:163-171.
- 76 Shen L, Robberecht H, Van Dael P et al. Estimation of the bioavailability of zinc and calcium from human, cow's, goat, and sheep milk by an in vitro method. *Biol Trace Elem Res.* 1995; 49:107-118.
- 77 Wysolmerski JJ. Interactions between breast, bone, and brain regulate mineral and skeletal metabolism during lactation. *Ann NY Acad Sci.* 2010; 1192:161-169.
- 78 Salamon SZ, Csapo J. Composition of the mother's milk III. Macro and micro- element contents. A review. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria.* 2009; 2:235–275.

- 79 Ross AC, Manson JE, Abrams SA et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine. What clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96:53-58.
- 80 Gunshin H, Yoshikawa M, Doudou T et al. Trace elements in human milk, cow's milk, and infant formula. *Agric. Biol. Chem.* 1985; 49:21-26.
- 81 Anderson RA. Essentiality of chromium in humans. *Sci Total Environ.* 1989; 86:75-81.
- 82 Offenbacher EG, Spencer H, Dowling HJ et al. Metabolic chromium balances in men. *Am J Clin Nutr.* 1986; 44:77-82.
- 83 Staniek H, Wójciak RW. The Combined Effects of Iron Excess in the Diet and Chromium (III) Supplementation on the Iron and Chromium Status in Female Rats. *Biol Trace Elem Res.* 2018; 184:398-408.
- 84 World Health Organization, International atomic energy agency & food and agricultura organization of the United Nations. *Trace Elements in Human Nutrition and Health.* Geneva. 1996; 6:1.
- 85 Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM. Lack of toxicity of chromium chloride and chromium picolinate in rats. *J Am Coll Nutr.* 1997; 16:273-279.
- 86 Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc.* Washington (DC): National Academies Press (US); 2001; 3:406-414.
- 87 Sola-Larrañaga C, Navarro-Blasco I. Chromium content in different kinds of Spanish infant formulae and estimation of dietary intake by infants fed on reconstituted powder formulae. *Food Addit Contam.* 2006; 23:1157-1168.
- 88 Casey CE, Hambidge KM. Chromium in human milk from American mothers. *Br J Nutr.* 1984; 52:73-77
- 89 Almeida AA, Lopes CM, Silva AM et al. Trace elements in human milk: correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. *J Trace Elem Med Biol.* 2008; 22:196-205.

- 90 Krachler M, Li FS, Rossipal E, Irgolic KJ. Changes in the concentrations of trace elements in human milk during lactation. *J Trace Elem Med Biol.* 1998; 12:159-176.
- 91 Abdulrazzaq YM, Osman N, Nagelkerke N et al. Trace element composition of plasma and breast milk of well-nourished women. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2008; 43:329-334.
- 92 Kim SY, Park JH, Kim EA et al. Longitudinal study on trace mineral compositions (selenium, zinc, copper, manganese) in Korean human preterm milk. *J Korean Med Sci.* 2012; 27:532-536.
- 93 Kim N. The simultaneous analysis of eight essential trace elements in human milk by ICP-MS. *Food Analytical Methods.* 2016; 9:2068-2075.
- 94 Li C, Solomons NW, Scott ME et al. Minerals and Trace Elements in Human Breast Milk Are Associated with Guatemalan Infant Anthropometric Outcomes within the First 6 Months. *J Nutr.* 2016; 146:2067-2074.
- 95 Lin TH, Jong YJ, Chiang CH et al. Longitudinal changes in Ca, Mg, Fe, Cu, and Zn in breast milk of women in Taiwan over a lactation period of one year. *Biol Trace Elem Res.* 1998; 62:31-41.
- 96 Al-Othman AA, El-Fawaz H, Hewedy FM et al. Mineral and vitamin content of mature breast milk of Saudi lactating mothers. *Ecol Food Nutr.* 1996; 34: 327–336.
- 97 Arnaud J, Favier A. Copper, iron, manganese and zinc contents in human colostrum and transitory milk of French women. *Sci Total Environ.* 1995; 159:9-15.
- 98 Lönnerdal B, Hernell O. Iron, zinc, copper and selenium status of breast-fed infants and infants fed trace element fortified milk-based infant formula. *Acta Paediatr.* 1994; 83:367-373.
- 99 Hannan MA, Faraji B, Tanguma J et al. Maternal milk concentration of zinc, iron, selenium, and iodine and its relationship to dietary intakes. *Biol Trace Elem Res.* 2009; 127:6-15.

- 100 Otten JJ, Hellwig JP, Meyers LD. DRI, Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. Washington, D.C.: National Academies Press. 2006; 169:76-80.
- 101 Ares S, Quero J, Durán S, Presas MJ, Herruzo R, Morreale de Escobar G. Iodine content of infant formulas and iodine intake of premature babies: high risk of iodine deficiency. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1994; 71:184-191.
- 102 Napierala M, Mazela J, Merritt TA et al. Tobacco smoking and breastfeeding: Effect on the lactation process, breast milk composition and infant development. A critical review *Environ Res.* 2016; 151:321-338.
- 103 Klein LD, Breakey AA, Scelza B et al. Concentrations of trace elements in human milk: Comparisons among women in Argentina, Namibia, Poland, and the United States. *PLoS One.* 2017; 12:183-367.
- 104 American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Kleinman RE, Greer FR, eds. *Pediatric Nutrition*, 8th eds. Itasca, IL: AAP. 2019
- 105 Tran T, Chohanadisai W, Crinella F et al. Effect of high dietary manganese intake of neonatal rats on tissue mineral accumulation, striatal dopamine levels, and neurodevelopmental status. *Neurotoxicology.* 2002; 23:635–643.
- 106 Parr RM, DeMaeyer EM, Iyengar VG et al. Minor and trace elements in human milk from Guatemala, Hungary, Nigeria, Philippines, Sweden, and Zaire. Results from a WHO/IAEA joint project. *Biol Trace Elem Res.* 1991; 29:51-75.
- 107 Yoshida M, Ota S, Fukunaga K et al. Serum molybdenum concentration in healthy Japanese adults determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J Trace Elem Med Biol.* 2006; 20:19-23.
- 108 Navarro-Blasco I, Alvarez-Galindo JJ. Selenium content of Spanish infant formulae and human milk: Influence of protein matrix, interactions with other trace elements and estimation of dietary intake by infants. *Trace Elem Med Biol.* 2004; 17:277-289.

- 109 Bratter P, de Bratter VE. Influence of high dietary selenium intake on the thyroid hormone level in human serum. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 1996; 10:163-166
- 110 Brätter P, Brätter VE, Recknagel S et al. Maternal selenium status influences the concentration and binding pattern of zinc in human milk. *J Trace Elem Med Biol*. 1997; 11:203-209.
- 111 Muñoz-Naveiro O, Domínguez-González R, Bermejo-Barrera A et al. Study of the bioavailability of selenium in cows' milk after a supplementation of cow feed with different forms of selenium. *Anal Bioanal Chem*. 2006; 385:189-196.
- 112 Muñoz-Naveiro O, Domínguez-González R, Bermejo-Barrera A et al. Determination of total selenium and selenium distribution in the milk phases in commercial cow's milk by HG-AAS. *Anal Bioanal Chem*. 2005; 381:1145-1151.
- 113 Devi CB. Zinc in human health. *J of Dental and Med Sci*. 2014; 13: 18-23.
- 114 Adams CL, Hambidge M, Raboy V et al. Zinc absorption from a low-phytic acid maize. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76:556-559.
- 115 Kaur K. Zinc: The metal of life. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2014; 13:358-376.
- 116 Wasowicz W, Gromadzinska J, Szram K et al. Selenium, zinc, and copper concentrations in the blood and milk of lactating women. *Biol Trace Elem Res*. 2001; 79:221-233.
- 117 Narang APS. Comparative study of trace elements of human milk in preterm and term mothers. *Trace Elem and Electrolytes*. 2006; 23:99-102.
- 118 Kim YS, Song MY, Park JD et al. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2010; 6:7-20.
- 119 Drake PL, Hazelwood KJ. Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *Ann Occup Hyg*. 2005; 49:575-585.
- 120 Christensen FM, Johnston HJ, Stone V et al. Nano-silver-feasibility and challenges for human health risk assessment based on open literature. *Nanotoxicology*. 2010; 4:284-295.

- 121 Benn TM, Westerhoff P. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environ Sci Technol.* 2008; 42:4133-4139.
- 122 Quadros ME, Pierson R, Tulse NS et al. Release of silver from nanotechnology-based consumer products for children. *Environ Sci Technol.* 2013; 47:8894-8901.
- 123 European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 12th list of substances for food contact materials. *EFSA J.* 2006; 395:1–21.
- 124 Priest ND. The bioavailability and metabolism of aluminium compounds in man. *Proc Nutr Soc.* 1993; 52:231-240.
- 125 Müller JP, Steinegger A, Schlatter C. Contribution of aluminum from packaging materials and cooking utensils to the daily aluminum intake. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1993; 197:332-341.
- 126 Weaver LT. Soy-based infant milk formulas and passive intestinal permeability. *Lancet.* 1989. 6; 1:1023-1024.
- 127 Puntis JW, Hall K, Booth IW. Plasma aluminium and prolonged parenteral nutrition in infancy. *Lancet.* 1986; 2:1332-1333.
- 128 Freundlich M, Zilleruelo G, Abitbol C et al. Infant formula as a cause of aluminium toxicity in neonatal uraemia. *Lancet.* 1985; 2:527-529.
- 129 Shimizu H, Mori T, Koyama M et al. Brain aluminum levels sharply increase in the elderly “non-demented” as compared to younger adults. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi.* 1994; 31:950–960.
- 130 Fernandez-Lorenzo JR, Cocho JA, Rey-Goldar ML et al. Aluminum contents of human milk, cow's milk, and infant formulas. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999; 28:270-275.
- 131 Kazi TG, Jalbani N, Baig JA et al. Determination of toxic elements in infant formulae by using electrothermal atomic absorption spectrometer. *Food Chem Toxicol.* 2009; 47:1425-1429.

- 132 Hawkins NM, Coffey S, Lawson MS et al. Potential aluminium toxicity in infants fed special infant formula. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 1994; 19:377-381.
- 133 Chuchu N, Patel B, Sebastian B et al. The aluminium content of infant formulas remains too high. *BMC Pediatr.* 2013; 8:13-162.
- 134 Raber G, Stock N, Hanel P et al. An improved HPLC–ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: application to rice, wheat and tuna fish. *Food Chem.* 2012; 134:524–532.
- 135 Tseng CH. Arsenic methylation, urinary arsenic metabolites and human diseases: current perspective. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2007; 25:1–22.
- 136 Fängström B, Moore S, Nermell B et al. Breast-feeding protects against arsenic exposure in Bangladeshi infants. *Environ Health Perspect.* 2008; 116:963–969
- 137 Farzan SF, Karagas MR, Chen Y. In utero and early life arsenic exposure in relation to long-term health and disease. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013; 272:384-390.
- 138 Fängström B, Hamadani J, Nermell B et al. Impaired arsenic metabolism in children during weaning. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009; 239:208-214.
- 139 Björklund KL, Vahter M, Palm B et al. Metals and trace element concentrations in breast milk of first time healthy mothers: a biological monitoring study. *Environ Health.* 2012; 11:92.
- 140 Samanta G, Das D, Mandal BK et al. Arsenic in the breast milk of lactating women in arsenic-affected areas of West Bengal, India and its effect on infants. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2007; 42:1815-1825.
- 141 Carignan CC, Karagas MR, Punshon T et al. Contribution of breast milk and formula to arsenic exposure during the first year of life in a US prospective cohort. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2016; 26:452-457.
- 142 Islam MR, Attia J, Alauddin M et al. Availability of arsenic in human milk in women and its correlation with arsenic in urine of breastfed children living in arsenic contaminated areas in Bangladesh. *Environ Health.* 2014; 13:101.

- 143 Choudhury H, Cary R. Barium and barium compounds. Concise international chemical assessment document 33. World Health Organization, Geneva. 2006; 44:77-82.
- 144 Tanase CM, Griffin P, Koski KG et al. Sodium and potassium in composite food samples from the Canadian Total Diet Study. *J Food Compos Anal.* 2011; 24:237–243
- 145 Biego GH, Joyeux M, Hartemann P et al. Determination of mineral contents in different kinds of milk and estimation of dietary intake in infants. *Food Addit Contam.* 1998; 15:775–781
- 146 Moffett D, Smith C, Stevens Y et al. Toxicological profile for barium and barium compounds. Agency for toxic substances and disease registry. 2007; 181:294–297.
- 147 Guney M, Zagury GJ. Heavy metals in toys and low-cost jewelry: critical review of U.S. and Canadian legislations and recommendations for testing. *Environ Sci Technol.* 2012; 46:4265-4274.
- 148 Gürbay A, Charehsaz M, Eken A et al. Toxic metals in breast milk samples from Ankara, Turkey: assessment of lead, cadmium, nickel, and arsenic levels. *Biol Trace Elem Res.* 2012; 149:117-122.
- 149 Kantola M, Vartiainen T. Changes in selenium, zinc, copper and cadmium contents in human milk during the time when selenium has been supplemented to fertilizers in Finland. *J Trace Elem Med Biol.* 2001; 15:11-17.
- 150 Örün E, Yalçın SS, Aykut O et al. Breast milk lead and cadmium levels from suburban areas of Ankara. *Sci Total Environ.* 2011; 409:2467-2472.
- 151 Ursinyova M, Masanova V. Cadmium, lead and mercury in human milk from Slovakia. *Food Addit Contam.* 2005; 22:579-589.
- 152 Khamoni JA, Hamshaw T, Gardiner PHE. Impact of ingredients on the elemental content of baby foods. *Food Chem.* 2017; 231:309-315.
- 153 Gattavecchia E, Ghini S, Tonelli D et al. Cesium-137 levels in breast milk and placenta after fallout from the reactor accident at Chernobyl. *Health Phys.* 1989; 56:245-248.

- 154 Di Lallo D, Bertollini R, Perucci CA et al. Radioactivity in breast milk in central Italy in the aftermath of Chernobyl. *Acta Paediatr Scand.* 1987; 76:530-531.
- 155 Campos-Venuti G, Risica S, Rogani A et al. Incidente di Chernobyl; gestione dell'emergenza in Italia e in altri paesi europei. *Ann Ist Super Sanita.* 1997; 33:519-530.
- 156 International Commission on Radiological Protection. Annals of the ICRP. A report of: doses to infants from ingestion of radionuclides in mothers' milk. *Ann ICRP.* 2004; 34:267-269.
- 157 Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal-ions. *Free Free Radic Biol Med.* 1995; 18:321-336.
- 158 Yalcin SS, Yurdakok K, Yalcin S et al. Maternal and environmental determinants of breast-milk mercury concentrations. *Turk J Pediatr.* 2010; 52:1-9.
- 159 World Health Organization. Lead, cadmium and mercury. In *Trace Elements in Human Nutrition and Health.* Geneva: WHO. 2006; 195-216.
- 160 Dorea JG. Mercury and lead during breast-feeding. *Br J Nutr.* 2004; 92:21-40.
- 161 Gundacker C, Pietschnig B, Wittmann KJ et al. Lead and mercury in breast milk. *Pediatrics.* 2002; 110:873-878.
- 162 Oskarsson A, Schultz A, Skerfving S et al. Total and inorganic mercury in breast milk in relation to fish consumption and amalgam in lactating women. *Arch Environ Health.* 1996; 51:234-241.
- 163 Drasch G, Aigner S, Roeder G et al. Mercury in human colostrum and early breast milk. Its dependence on dental amalgam and other factors. *J Trace Elem Med Biol.* 1998; 12:23-27.
- 164 Malhi GS, Tanious M, Das P et al. Potential mechanisms of action of lithium in bipolar disorder. Current understanding. *CNS Drugs.* 2013; 27:135-153.
- 165 Viguera AC, Newport DJ, Ritchie J et al. Lithium in breast milk and nursing infants: clinical implications. *Am J Psychiatry.* 2007; 164:342-345.

- 166 Dostal LA, Hopfer SM, Lin S-M et al. Effects of nickel chloride on lactating rats and their suckling pups, and the transfer of nickel through rat milk. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1989; 101:220–231.
- 167 Rica CC, Kirkbright GF. Determination of trace concentrations of lead and nickel in human milk by electrothermal atomisation atomic absorption spectrophotometry and inductively-coupled plasma emission spectroscopy. *Sci Total Environ.* 1982; 22:193–201.
- 168 Canfield RL, Jusko TA, Kordas K. Environmental lead exposure and children's cognitive function. *Riv Ital Pediatr.* 2005; 31:293-300.
- 169 Gulson BL et al. Dietary intakes of selected elements from longitudinal 6-day duplicate diets for pregnant and nonpregnant subjects and elemental concentrations of breast milk and infant formula. *Environmental Research.* 2001; 87:160-174.
- 170 Kosanovic K. Simultaneous determination of cadmium, mercury, lead, arsenic, copper, and zinc in human breast milk by ICP-MS/microwave digestion. *Analytical Letters.* 2008; 41:406-416.
- 171 Bassil M, Daou F, Hassan H et al. Lead, cadmium and arsenic in human milk and their socio-demographic and lifestyle determinants in Lebanon. *Chemosphere.* 2018; 191:911-921.
- 172 Chao HH, Guo CH, Huang CB et al. Arsenic, cadmium, lead, and aluminium concentrations in human milk at early stages of lactation. *Pediatr Neonatol.* 2014; 55:127-134.
- 173 Ikem A, Nwankwoala A, Oduyungbo S et al. Levels of 26 elements in infant formula from USA, UK, and Nigeria by microwave digestion and ICP–OES. *Food Chem.* 2002; 77:439–447.
- 174 Winiarska-Mieczan A. Assessment of infant exposure to lead and cadmium content in infant formulas. *J Elementol.* 2009; 14:573–581.
- 175 Krachler M, Prohaska T, Koellensperger G et al. Concentrations of selected trace elements in human milk and in infant formulas determined by magnetic sector field inductively

- coupled plasma-mass spectrometry. *Biol Trace Elem Res.* 2000; 76:97-112.
- 176 Walter Ch. Rubidium: the sleeper mineral. ACRES, USA, the Voice of ECO-Agriculture. 2008; 38:23–24.
- 177 Khatami SF, Parvaresh P, Parvaresh P et al. Breast milk concentration of rubidium in lactating mothers by instrumental neutron activation analysis method. *Iran J Pediatr.* 2014; 24:692-696.
- 178 Fujisawa CH, Iura A, Ohta H et al. The serum levels of calcium and trace elements in low weight infants. *Biomed Res Trace Elements.* 2008; 19:97– 100.
- 179 Krachler M, Rossipal E, Micetic-Turk D. Trace element transfer from the mother to the newborn--investigations on triplets of colostrum, maternal and umbilical cord sera. *Eur J Clin Nutr.* 1999; 53:486-494.
- 180 Mino Y. Determination of organotins in human breast milk by gas chromatography with flame photometric detection. *J of Health Science.* 2008; 54:224-228.
- 181 Shagina NB, Tolstykh EI, Fell TP et al. Strontium biokinetic model for the lactating woman and transfer to breast milk: application to Techa River studies. *J Radiol Prot.* 2015;35(3):677-94.
- 182 Peira E, Turci F, Corazzari I et al. The influence of surface charge and photo-reactivity on skin-permeation enhancer property of nano-TiO in ex vivo pig skin model under indoor light. *Int J Pharm* 2014; 467:90–99.
- 183 Grande F, Tucci P. Titanium Dioxide Nanoparticles: a Risk for Human Health? *Mini Rev Med Chem.* 2016; 16:762-769.
- 184 Leonard A, Gerberr GB. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of thallium compounds. *Mutat Res.* 1997; 387:47-53.
- 185 Stojanovic M, Stevanovic D, Iles D et al. The effect of the uranium content in the tailings on some cultivated plants. *Water Air Soil Pollut.* 2011; 200:101–108.
- 186 Goulet RR, Thompson P. Bioaccumulation and toxicity of uranium, arsenic, and nickel to juvenile and adult *Hyalella*

- azteca in spiked sediment bioassays. *Environ Toxicol Chem.* 2018; 37:2340-2349.
- 187 Imtiaz M, Rizwan MS, Xiong S et al. Vanadium, recent advancements and research prospects: a review. *Environ Int.* 2015; 80:79–88.
- 188 Iwegbue CM, Nwozo SO, Overah LC et al. Survey of trace element composition of commercial infant formulas in the Nigerian market. *Food Addit Contam Part B Surveill.* 2010; 3:163-171.
- 189 Mohd-Taufek N; Cartwright D; Davies M et al. The Simultaneous Analysis of Eight Essential Trace Elements in Human Milk by ICP-MS. *Food Anal Methods.* 2016; 9:2068–2075.
- 190 Kominiarek MA, Peaceman AM. Gestational weight gain. *Am J Obstet Gynecol.* 2017; 217:642-651.
- 191 Carrascosa-Lezcano A, Fernández-García JM, Fernández-Ramos C et al. Spanish cross-sectional growth study 2008. Part II. Height, weight and body mass index values from birth to adulthood. *An Pediatr.* 2008; 68:552-569.
- 192 Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr.* 2013; 13:59.
- 193 Leon-Cava N, Lutter C, Ross J et al. Quantifying the benefits of breastfeeding: a summary of the evidence. Food and Nutrition Program (HPN) of the Division of Health Promotion and Protection (HPP) of the Pan American Health Organization (PAHO), Washington DC. 2002; 127:6-15.
- 194 Isaacs EB, Morley R, Lucas A. Early diet and general cognitive outcome at adolescence in children born at or below 30 weeks gestation. *J Pediatr* 2009; 155:229-234.
- 195 Prentice A, Barclay DV. Breast-milk calcium and phosphorus concentrations of mothers in rural Zaire. *Eur J Clin Nutr.* 1991; 45:611–617.

- 196 Atkinson AS, Radde IC, Chance GW, et al. Macromineral content of milk obtained during early lactation from mothers of premature infants. *Early Hum Dev.* 1980; 4:5–14.
- 197 Schanler R, Oh W. Composition of breast milk obtained from mothers of premature infants as compared to breast milk obtained from donors. *J Pediatr.* 1980; 96:679–81.
- 198 Bae YJ, Kratzsch J. Vitamin D and calcium in the human breast milk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018; 32:39-45.
- 199 Hannan MA, Dogadkin NN, Ashur IA et al. Copper, selenium, and zinc concentrations in human milk during the first three weeks of lactation. *Biol Trace Elem Res.* 2005; 107:11-20.
- 200 Ohtake M, Tamura T. Changes in zinc and copper concentrations in breast milk and blood of Japanese women during lactation. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1993; 39: 189–200.
- 201 Donangelo CM, Trugo NMF, Dorea JG. Hepatic reserves of iron, copper and vitamin B12 in Brazilian fetuses and infants of different socioeconomic status. *Nutrition.* 1993; 9:430–432.
- 202 Khaghani S, Ezzatpanah H, Mazhari N et al. Zinc and copper concentrations in human milk and infant formulas. *Iran J Pediatr.* 2010; 20:53–57.
- 203 Borkow G, Gabbay J. Copper as a biocidal tool. *Curr Med Chem.* 2005; 12:2163–2175.
- 204 Schwarz G, Belaidi AA. Molybdenum in human health and disease. *Met Ions Life Sci.* 2013; 13:415-450.
- 205 Chen J. An original discovery: selenium deficiency and Keshan disease (an endemic heart disease). *Asia Pac J Clin Nutr.* 2012; 21:320-326.
- 206 Garrido FJ, López Bellido L. Selenium and health; reference values and current status of Spanish population. *Nutr Hosp.* 2013; 28:1396-1406.
- 207 Cervilla JR, Fernández Lorenzo JR, Gil Calvo M, Fraga FM. Daily intake and selenium concentration in serum or infants in

- relation to different types of dietary milk in Spain. In: Proceeding of selenium-Tellurium Development Association, Fifth International Simposium. 1994; 355-356.
- 208 Cocho JA, Cervilla JR, Rey-Goldar ML et al. Chromium content in human milk, cow's milk, and infant formulas. *Biol Trace Elem Res.* 1992; 32:105-107
- 209 Mistry HD, Wilson V, Ramsay MM et al. Reduced selenium concentrations and glutathione peroxidase activity in preeclamptic pregnancies. *Hypertension.* 2008; 52:881–888
- 210 Dobrzynski W, Trafikowska U, Trafikowska A et al. Decreased selenium concentration in maternal and cord blood in preterm compared with term delivery. *Analyst.* 1998; 123:93–97.
- 211 Klapac T, Cavar S, Kasac Z et al. Selenium in placenta predicts birth weight in normal but not intrauterine growth restriction pregnancy. *J Trace Elem Med Biol.* 2008; 22:54–58.
- 212 Ustundag B, Yilmaz E, Dogan Y et al. Levels of cytokines (IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha) and trace elements (Zn, Cu) in breast milk from mothers of preterm and term infants. *Mediators Inflamm.* 2005; 6:331-336.
- 213 Nikniaz L, Mahdavi R, Gargari BP et al. Maternal body mass index, dietary intake and socioeconomic status: differential effects on breast milk zinc, copper and iron content. *Health Promot Perspect.* 2011; 1:140-146.
- 214 Dumrongwongsiri O, Chatvutinun S, Phoonlabdacha P et al. High Urinary Iodine Concentration Among Breastfed Infants and the Factors Associated with Iodine Content in Breast Milk. *Biol. Trace Elem Res.* 2018; 186:106–113.
- 215 Morreale de Escobar G, Obregon MJ, Escobar del Rey F. Role of thyroid hormone during early brain development. *Eur J Endocrinol.* 2004; 151:25-37.
- 216 Manganaro R, Marseglia L, Mami C et al. Breast milk sodium concentration, sodium intake and weight loss in breast-feeding newborn infants. *Br J Nutr.* 2007; 97:344-348)

- 217 Grillo A, Salvi L, Coruzzi P et al. Sodium Intake and Hypertension. *Nutrients*. 2019; 11:1970.
- 218 Bianchi G, Cusi D, Vezzoli G. Role of cellular sodium and calcium metabolism in the pathogenesis of essential hypertension. *Semin Nephrol*. 1988; 8:110-119.
- 219 Domellöf M, Lönnerdal B, Dewey K et al. Iron, zinc, and copper concentrations in breast milk are independent of maternal mineral status. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79:111–115.
- 220 Kumasaka MY, Yamanoshita O, Shimizu S et al. Enhanced carcinogenicity by coexposure to arsenic and iron and a novel remediation system for the elements in well drinking water. *Arch Toxicol*. 2013; 87:439-447.
- 221 Sorg TJ, Chen AS, Wang L. Arsenic species in drinking water wells in the USA with high arsenic concentrations. *Water Res*. 2014; 48:156-169.
- 222 Fernandez-Real JM, Manco M. Effects of iron overload on chronic metabolic diseases. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014; 2:513–526
- 223 American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Iron fortification of infant formulas. *Pediatrics*. 1999 Jul; 104(1 Pt 1):119-23.
- 224 Sipahi H, Eken A, Aydın A et al. Safety assessment of essential and toxic metals in infant formulas. *Turk J Pediatr*. 2014; 56:385-391.
- 225 Molska A, Gutowska I, Baranowska-Bosiacka I et al. The content of elements in infant formulas and drinks against mineral requirements of children. *Biol Trace Elem Res*. 2014; 158:422-427.
- 226 Czubačka E, Czerczak S. Are platinum nanoparticles safe to human health? *Med Pr*. 2019; 70(4):487-495.
- 227 Bansa DK, Awua AK, Boatın R et al. Cross-sectional assessment of infants' exposure to toxic metals through breast milk in a

- prospective cohort study of mining communities in Ghana. *BMC Public Health*. 2017; 17:505.
- 228 Nishijo M, Nakagawa H, Honda R et al. Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy outcome and breast milk. *Occup Environ Med*. 2002; 59:394-397.
- 229 O'Brien CE, Harik N, James LP, Seib PM et al. Cesium-induced QT-interval prolongation in an adolescent. *Pharmacotherapy*. 2008; 28:1059-1065.
- 230 Berlin M, Zalups RK, Fowler BA. Mercury. *Handbook on the Toxicology of Metals*. 3rd ed. chapter 33. New York, NY, USA: Elsevier; 2007
- 231 D'Haese PC, Couttenye MM, Lamberts L et al. Aluminum, iron, lead, cadmium, copper, zinc, chromium, magnesium, strontium, and calcium content in bone of end-stage renal failure patients. *Clin Chem*. 1999; 45:1548-1556.
- 232 Baranowska-Wójcik E, Sz wajgier D, Oleszczuk P et al. Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Exposure on Human Health-a Review. *Biol Trace Elem Res*. 2020; 193:118-129.
- 233 Rahimi E, Hashemi M, Torki Baghbadorani Z. Determination of cadmium and lead in human milk. *Int J Environ Sci Technol*. 2009; 6:671-676.
- 234 Gulson BL, Jameson CW, Mahaffey KR, et al. Relationships of lead in breast milk to lead in blood, urine, and diet of the infant and mother. *Environ Health Perspect*. 1998; 106:667-674.
- 235 Kwapuliński J, Wiechuła D, Fischer A. The influence of smoking and passive smoking to occurrence of metals in breast milk. *Przegl Lek*. 2004; 61:1113-1115.
- 236 Shi H, Magaye R, Castranova V et al. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Part Fibre Toxicol*. 2013; 15:10-15.
- 237 White SJO, Shine JP. Exposure Potential and Health Impacts of Indium and Gallium, Metals Critical to Emerging Electronics

- and Energy Technologies. *Curr Environ Health Rep.* 2016; 3:459-467
- 238 Exley C. What is the risk of aluminium as a neurotoxin? *Expert Rev Neurother.* 2014; 14:589-591.
- 239 Exley C, Vickers T. Elevated brain aluminium and early onset Alzheimer's disease in an individual occupationally exposed to aluminium: a case report. *J Med Case Rep.* 2014; 8:41.
- 240 Czajka M, Sawicki K, Sikorska K et al. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles in central nervous system. *Toxicol in Vitro.* 2015; 29:1042-1052.

