

**DR. JUAN FRANCISCO LORO FERRER DIRECTOR DEL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLINICAS DE LA
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,**

CERTIFICA,

Que el Consejo de Doctores del Departamento en su sesión de fecha 19 de junio tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "EFECTO DE LAS SUPLEMENTACIÓN MATERNA CON DHA DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA SOBRE LA SEÑALIZACIÓN INFLAMATORIA Y EL PATRÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LA MADRE, LECHE MATERNA Y EL RECIÉN NACIDO" presentada por la doctoranda Dña. Yéssica Rodríguez Santana y dirigida por los Doctores D. Luis Peña Quintana, D. Julio José Ochoa Herrera y D. Federico Lara-Villoslada

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 6 del Reglamento para la elaboración, defensa, tribunal y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 19 de junio de dos mil quince.





Tesis Doctoral

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Facultad de Ciencias de la Salud. Departamento de Ciencias Clínicas.

Perspectivas actuales en la investigación en Perinatología, Ginecología y Pediatría.

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN
MATERNA CON DHA DURANTE LA
GESTACIÓN Y LA LACTANCIA SOBRE LA
SEÑALIZACIÓN INFLAMATORIA Y EL
PATRÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LA
MADRE, LECHE MATERNA Y EL RECIÉN
NACIDO**

**Tesis doctoral presentada por Dña. Yéssica Rodríguez Santana para optar al grado
de Doctor en Medicina.**

**Dirigida por los doctores D. Luis Peña Quintana, D. Julio José Ochoa Herrera y D.
Federico Lara-Villoslada**

Fdo. Los Directores

Fdo. La Doctorando

Fdo.: Luis Peña Quintana, Julio José Ochoa Herrera, Federico Lara-Villoslada, Yéssica Rodríguez Santana.

Las Palmas de Gran Canaria, Junio de 2015.

D. LUIS PEÑA QUINTANA, Profesor Titular de Pediatría de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria adscrito al Departamento de Ciencias Clínicas, Jefe de Sección de Pediatría y Jefe de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil de Las Palmas,

CERTIFICA:

Que Dña. Yéssica Rodríguez Santana, licenciada en Medicina y especialista en Pediatría y sus Áreas Específicas, ha realizado bajo mi dirección y supervisión el trabajo de Tesis Doctoral titulado: “Efecto de la suplementación materna con DHA durante la gestación y la lactancia sobre la señalización inflamatoria y el patrón de ácidos grasos en la madre, leche materna y el recién nacido”. La aportación más relevante de dicho trabajo es su contribución al conocimiento de los efectos de la suplementación dietética con ácidos grasos de cadena larga omega-3 en etapas vulnerables de la vida como son el embarazo, el desarrollo fetal y la lactancia haciendo hincapié en su influencia sobre la señalización inflamatoria que puede acontecer en estas etapas fisiológicas y que es en parte responsable de la morbilidad asociada a las mismas.

Dado que la presente memoria reúne las condiciones para ser defendida como Tesis Doctoral ante tribunal y, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo el presente certificado en Las Palmas, junio de 2015.

Fdo.: Luis Peña Quintana

D. JULIO JOSÉ OCHOA HERRERA, Profesor Titular de la Universidad de Granada,

CERTIFICA:

Que Dña. Yéssica Rodríguez Santana, licenciada en Medicina y especialista en Pediatría y sus Áreas Específicas, ha realizado bajo mi dirección y supervisión el trabajo de Tesis Doctoral titulado: “Efecto de la suplementación materna con DHA durante la gestación y la lactancia sobre la señalización inflamatoria y el patrón de ácidos grasos en la madre, leche materna y el recién nacido”. La aportación más relevante de dicho trabajo es su contribución al conocimiento de los efectos de la suplementación dietética con ácidos grasos de cadena larga omega-3 en etapas vulnerables de la vida como son el embarazo, el desarrollo fetal y la lactancia haciendo hincapié en su influencia sobre la señalización inflamatoria que puede acontecer en estas etapas fisiológicas y que es en parte responsable de la morbilidad asociada a las mismas.

Dado que la presente memoria reúne las condiciones para ser defendida como Tesis Doctoral ante tribunal y, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo el presente certificado en Las Palmas, junio de 2015.



Fdo.: Julio José Ochoa Herrera

D. FEDERICO LARA-VILLOSLADA, Doctor en Farmacia por la Universidad de Granada y Responsable de Investigación y Desarrollo de Lactalis Puleva,

CERTIFICA:

Que Dña. Yéssica Rodríguez Santana, licenciada en Medicina y especialista en Pediatría y sus Áreas Específicas, ha realizado bajo mi dirección y supervisión el trabajo de Tesis Doctoral titulado: “Efecto de la suplementación materna con DHA durante la gestación y la lactancia sobre la señalización inflamatoria y el patrón de ácidos grasos en la madre, leche materna y el recién nacido”. La aportación más relevante de dicho trabajo es su contribución al conocimiento de los efectos de la suplementación dietética con ácidos grasos de cadena larga omega-3 en etapas vulnerables de la vida como son el embarazo, el desarrollo fetal y la lactancia haciendo hincapié en su influencia sobre la señalización inflamatoria que puede acontecer en estas etapas fisiológicas y que es en parte responsable de la morbilidad asociada a las mismas.

Dado que la presente memoria reúne las condiciones para ser defendida como Tesis Doctoral ante tribunal y, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo el presente certificado en Las Palmas, junio de 2015.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Flara', enclosed within a stylized, elongated arrow-like shape pointing to the right.

Fdo.: Federico Lara-Villoslada

iActúa en vez de suplicar.
Sacrificate sin esperanza de gloria ni recompensa!
Si quieres conocer los milagros, hazlos tú antes.
Solo así podrá cumplirse tu peculiar destino.

Ludwig van Beethoven

AGRADECIMIENTOS

A mis directores porque sin ellos no hubiese sabido abordar este trabajo y llevarlo a buen puerto:

Al Profesor Dr. D. Luis Peña Quintana por su tiempo, sus consejos y su experiencia. Por impulsarme a realizar y a continuar este proyecto. Por ser un modelo a seguir, por transmitir esas ganas de seguir trabajando y aprendiendo siempre.

Al Profesor Dr. D. Julio José Ochoa Herrera por estar siempre disponible a pesar de la distancia, por ayudarme con los aspectos metodológicos, por sus sugerencias y por su rapidez en las respuestas.

Al Dr. D. Federico Lara-Villoslada por contestar y resolver las dudas a pesar de sus ocupaciones.

Al Profesor Dr. D. Pedro Saavedra Santana por su sabiduría. Por su codiciado tiempo, por su amabilidad y predisposición. Por su gran aportación con la estadística en este proyecto y por servirme de ejemplo en el trabajo.

A D. Roque Sánchez Perera que siempre me recibió amablemente y me ofreció su gran ayuda con las búsquedas bibliográficas.

A mis padres por impulsarme y darme ejemplo para trabajar y luchar día a día por lo que quieres. Por enseñarme que el camino no siempre es fácil pero que lo importante es saber levantarse con cada tropiezo y no rendirse jamás. Gracias por estar ahí conmigo en cada momento.

A mis hermanos, que juntos hemos crecido en esta familia que nos ha hecho valorar que la unión y el cariño hacen la fuerza y que con sus consejos me hacen poner los pies en la tierra.

A mi compañero en este camino de la vida, mi soporte, que sabe de sobra lo que ha conllevado este trabajo estando ahí siempre.

A mi familia política, por su cariño y ánimo.

A mis sobrinos por evadirme de la rutina en esos pequeños pero intensos momentos que comparto con ellos.

A mi compañera de batalla en esta etapa académica de nuestras vidas, gracias por tu ayuda.

Gracias a todas las madres y niños participantes en el estudio y a todos los que de una forma u otra han puesto su granito de arena para que este proyecto se llevase a cabo.

Finalmente, gracias a la Pediatría y a los niños por la energía que nos transmiten para seguir aprendiendo y por ayudarme a amar lo que hago día a día.

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
LISTADO DE ABREVIATURAS UTILIZADAS.....	XV

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	3
1.1. Ácido Docosahexaenoico (DHA).	
1.1.1. Definición.	
1.1.2. Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.	
1.1.3. Fuentes de DHA e ingesta diaria recomendada.	
1.1.4. Funciones de los ácidos grasos omega-3.	
1.1.5. Interacciones del DHA y otros ácidos grasos.	
1.1.6. DHA en la gestación y lactancia.	
1.2 DHA e inflamación.	
1.2.1 Citoquinas.	
1.2.1.1. Concepto y funciones de las citoquinas.	
1.2.1.2. Mecanismos de acción y funciones de las citoquinas.	
1.2.1.3. Clasificación de la citoquinas.	
1.2.2. Efecto de la suplementación del DHA en la inflamación.	
1.2.3. Inflamación, DHA y gestación.	
2. JUSTIFICACIÓN.....	49

3. OBJETIVOS.....	53
4. PACIENTES Y MÉTODOS.....	57
4.1. PACIENTES	
4.1.1. Pacientes y diseño del estudio.	
4.1.2. Criterios de participación.	
4.1.3. Diseño de los grupos e intervención.	
4.2. MÉTODOS	
4.2.1. Muestras para el análisis.	
4.2.2. Análisis de ácidos grasos en leche materna, plasma y eritrocitos.	
4.2.3. Análisis de citoquinas en plasma.	
4.2.4. Análisis estadístico.	
5. RESULTADOS.....	83
5.1. Somatometría de las madres e hijos.	
5.2. Determinación de la composición de ácidos grasos en plasma materno.	
5.3. Determinación de la composición de ácidos grasos en membrana de eritrocitos materno.	
5.4. Determinación de la composición de ácidos grasos en leche materna.	
5.5. Determinación de la composición de ácidos grasos en plasma de hijo.	
5.6. Determinación de la composición de ácidos grasos en membrana de eritrocitos de hijo.	
5.7. Determinación de citoquinas en plasma de madre.	
5.8. Determinación de citoquinas en plasma de hijo.	
5.9. Relación entre el DHA del plasma y membrana de eritrocitos materno con las citoquinas.	
5.10. Relación entre el DHA en leche materna y las citoquinas.	
5.11. Relación entre el DHA en plasma y membrana de eritrocitos de hijo y las citoquinas.	

6. DISCUSIÓN.....	135
7. CONCLUSIONES.....	151
8. BIBLIOGRAFÍA.....	155
9. ANEXOS I.....	183
10. ANEXOS II.....	205

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de las recomendaciones de AGPI-CL en lactantes.....	12
Tabla 2. Composición de los productos lácteos utilizados en el estudio.....	62
Tabla 3. Parámetros instrumentales para el patrón de ácidos grasos en plasma.....	66
Tabla 4. Parámetros instrumentales para el análisis de ácidos grasos en eritrocitos.....	69
Tabla 5. Parámetros instrumentales para el análisis de ácidos grasos en leche materna.....	71
Tabla 6. Ajustes del equipo Luminex®200, Luminex Corporation (Austin, EE.UU).....	76
Tabla 7. Características de las madres e hijos.....	84
Tabla 8. Medidas antropométricas de los hijos.....	85
Tabla 9a. Composición de los ácidos grasos en plasma materno (Resultados expresados %).	88
Tabla 9b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en plasma materno.....	89
Tabla 10a. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos materno.....	93
Tabla 10b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos materno.....	94
Tabla 11a. Composición de los ácidos grasos en leche materna.....	97

Tabla 11b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en leche materna.....	98
Tabla 11c. Continuación. Composición de los ácidos grasos en leche materna.....	99
Tabla 12a. Composición de los ácidos grasos en plasma de hijo.....	103
Tabla 12b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en plasma de hijo.....	104
Tabla 13. Comparación de los niveles de DHA según género del niño.....	104
Tabla 14a. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos de hijo....	107
Tabla 14b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos de hijo.....	108
Tabla 15. Distribución de las citoquinas en plasma de madre.....	111
Tabla 16. Distribución de las citoquinas en plasma de hijo.....	114
Tabla 17. Correlaciones de Spearman entre el % de DHA en plasma materno y las citoquinas.....	117
Tabla 18. Correlaciones de Spearman entre el % de DHA en eritrocitos de la madre y las citoquinas.....	120
Tabla 19. Correlaciones de Spearman entre el %DHA en leche materna y las citoquinas de los hijos.....	123
Tabla 20. Correlaciones de Spearman entre el DHA en plasma de los hijos y las citoquinas de los hijos.....	126

Tabla 21. Correlaciones de Spearman entre el DHA en eritrocitos de los hijos y las citoquinas de los hijos.....	129
--	------------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.....	4
Figura 2. Etapas metabólicas de la biosíntesis de ácidos grasos ω -6 y ω -3.....	6
Figura 3. Fuentes de ácidos grasos poliinsaturados.....	7
Figura 4. Eicosanoides derivados de los ácidos grasos de las familias ω -6 y ω -3.....	16
Figura 5. Principales funciones de los AGPI-CL.....	20
Figura 6. Formas de actuación de las citoquinas.....	28
Figura 7. Acciones de las citoquinas.....	29
Figura 8. Balance entre las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias.....	40
Figura 9. Diagrama de flujo donde se muestran las participantes en el estudio.....	60
Figura 10. Esquema cronológico de recogida de las muestras.....	64
Figura 11. Esquema de las diluciones seriadas.....	74
Figura 12. Evolución de los valores esperados de peso, talla y perímetro craneal en el primer año de vida.....	86
Figura 13a. Evolución de las concentraciones de los ácidos grasos en plasma materno.....	90
Figura 13b. Continuación. Evolución de las concentraciones de los ácidos grasos en plasma materno.....	91

Figura 14a. Evolución de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos materno.....	95
Figura 14b. Continuación. Evolución de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos materno.....	96
Figura 15a. Evolución de los ácidos grasos en leche materna (%).....	100
Figura 15b. Continuación. Evolución de los ácidos grasos en leche materna (%).....	101
Figura 16. Niveles de DHA según género y fase.....	105
Figura 17. Distribución de las citoquinas en plasma de madre.....	112
Figura 18. Distribución de las citoquinas en plasma de hijo.....	115
Figura 19. Correlación entre el DHA en plasma materno con las citoquinas en el momento del parto.....	118
Figura 20. Correlación entre el DHA en plasma materno con las citoquinas a los 2,5 meses tras el parto.....	119
Figura 21. Correlación entre el DHA en eritrocitos de madre con las citoquinas en el momento del parto.....	121
Figura 22. Correlación entre el DHA en eritrocitos de madre con las citoquinas a los 2,5 meses tras el parto.....	122
Figura 23. Correlación entre el DHA en leche materna con las citoquinas de hijo a los 2,5 meses de lactancia.....	124

Figura 24. Correlación entre el DHA en plasma de hijo con las citoquinas en el momento del parto.....	127
Figura 25. Correlación entre el DHA en plasma de hijo con las citoquinas a los 2,5 meses de vida.....	128
Figura 26. Correlación entre el DHA en eritrocitos de hijo con las citoquinas en el momento del parto.....	130
Figura 27. Correlación entre el DHA en eritrocitos de hijo con las citoquinas a los 2,5 meses de vida.....	131

ABREVIATURAS

LISTADO DE ABREVIATURAS

AECOSAN: Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición.

AGPI-CL: ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

AHANC: Comité Nutricional de la Asociación Americana del Corazón.

AKT: serina/treonina quinasa.

AL: ácido linoleico.

ALA: ácido linolénico.

ARA: ácido araquidónico.

BPCs: bifenilos policlorados

COX: ciclooxigenasa.

CSF: factor estimulante de colonias.

DHA: ácido docosahexaenoico.

DPA: ácido docosapentaenoico.

DDT: Dicloro Difenil Tricloroetano.

EFSA: Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos.

EPA: ácido eicosapentaenoico.

Epo: Eritropoyetina.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FFQ: cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

G-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos.

GM-CSF: factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos.

ICAM: molécula de adhesión vascular intercelular.

IFN: interferón.

IL: interleuquina.

IQR: rangos intercuartílicos.

IST: ingesta semanal tolerable.

JAK: Janus quinasa.

LAK: células asesinas activadas por citoquinas.

LC-PUFAs: long chain polyunsaturated fatty acids.

LDL: lipoproteínas de baja densidad.

LOX: lipooxigenasas.

LPS: lipopolisacárido.

LTB4: leucotrieno B4.

LTB5: leucotrieno B5.

LTE4: leucotrieno E4.

M-CSF: factor estimulante de colonias de macrófagos.

mg: miligramos.

MHC: Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

µg: microgramos

µL: microlitros.

NK: natural killer.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PBDEs: polibromodifenil éteres

PCR: proteína C reactiva.

PGE2: prostaglandina E2.

PGE3: prostaglandina E3.

PGI3: prostaglandina I3.

PPARγ: receptor activado por proliferadores de peroxisomas.

ROS: especies reactivas de oxígeno.

SD: desviación estándar.

S.E.G: semanas de edad gestacional.

STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription

TAGs: triacilgliceroles.

TGF: factor de crecimiento transformante.

Th1: linfocitos T helper 1.

Th2: linfocitos T helper 2.

TNF: factor de necrosis tumoral.

TXA3: tromboxano A3.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA)

1.1.1. Definición.

El ácido docosahexaenoico (DHA) es un ácido graso poliinsaturado de cadena larga perteneciente a la serie omega-3.

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), también conocidos con las siglas en inglés LC-PUFAs, son ácidos grasos constituidos por al menos 18-20 o más carbonos. Se clasifican en dos familias principales dependiendo de la posición de su primer doble enlace (1), la serie omega-3 y la serie omega-6. Los ácidos grasos de la serie omega-3 muestran su primer doble enlace entre los carbonos 3 y 4.

Los principales ácidos grasos omega-3 de cadena larga son el ácido alfa linolénico (ALA) (18:3 $\Delta^9, 12, 15$), el ácido docosahexaenoico (DHA) (22:6 $\Delta^4, 7, 10, 13, 16, 19$), el ácido eicosapentaenoico (EPA) (20:5 $\Delta^5, 8, 11, 14, 17$), y el docosapentaenoico (DPA) (22:5 $\Delta^7, 10, 13, 16, 19$). De la familia de los ácidos grasos de la serie omega-6 destacan el ácido linoleico (LA) (18:2 $\Delta^9, 12$) y el ácido araquidónico (ARA) (20:4 $\Delta^5, 8, 11, 14$).

La figura 1 muestra la fórmula estructural de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (1).

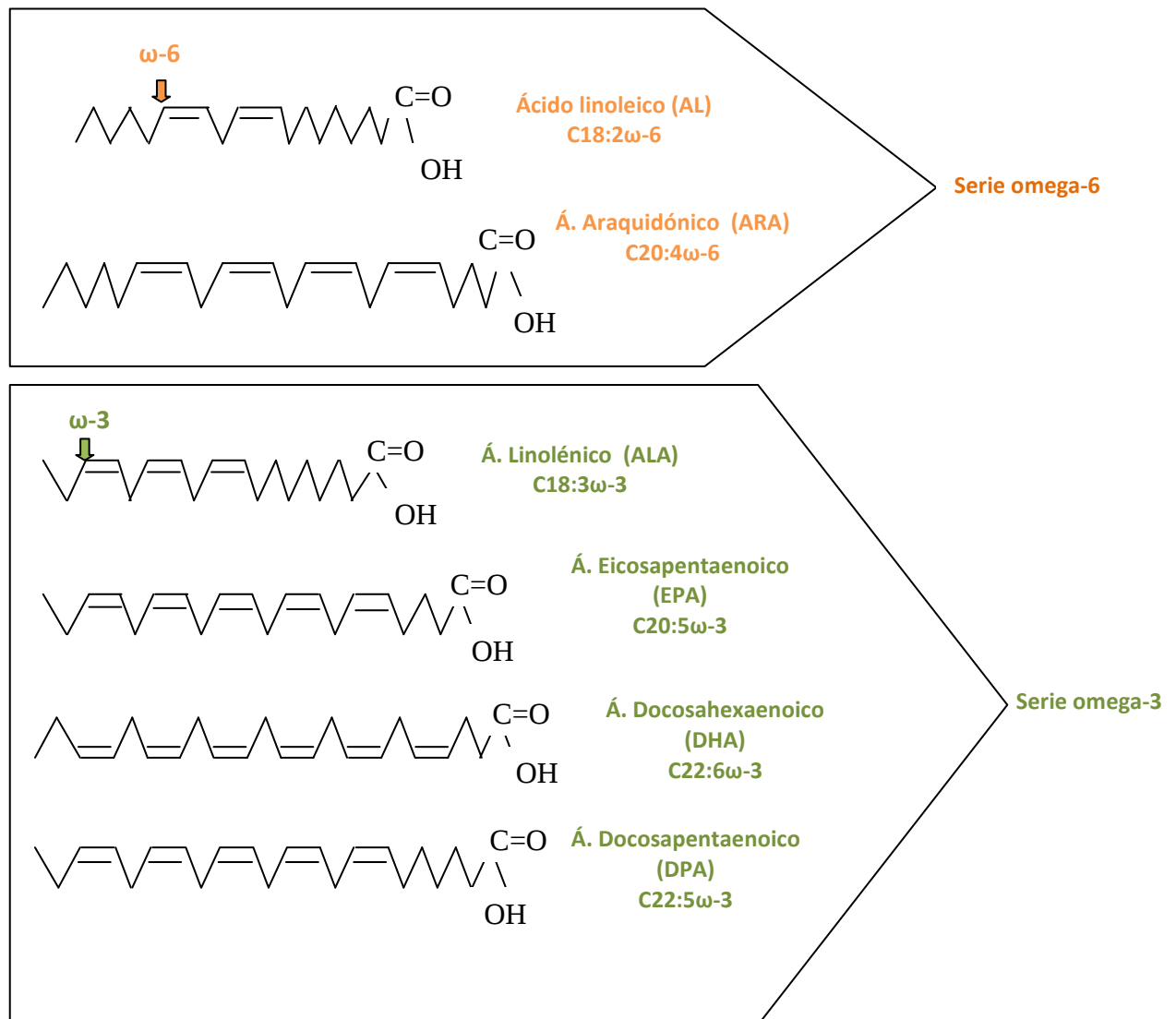


Figura 1. Estructura de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga

1.1.2. Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

Los ácidos grasos omega-3 y omega-6 son considerados esenciales puesto que su síntesis en el ser humano es limitada.

Los ácidos linoleico (AL) y linolénico (ALA) son sintetizados en una gran cantidad de plantas pero no pueden ser producidos por los humanos ni otros mamíferos

a partir de su precursor, el ácido oleico, al carecer de actividad de la enzima Δ -12 y Δ -15 desaturasa (1). Sin embargo el ser humano puede sintetizar otros ácidos grasos de cadena larga como el ARA, el DHA y el EPA a partir del AL y el ALA, precursores de la serie omega-6 y omega-3 respectivamente. Aún así, la conversión eficiente de estos ácidos grasos hacia DHA, EPA y ARA en humanos es baja (2), por eso el aporte de estos ácidos grasos con la dieta es lo más eficiente. Se ha observado que la conversión a DHA varía entre sexos, siendo más eficiente en mujeres (3). Se incrementa durante el embarazo y se ve disminuida en recién nacidos (3) debido a una menor actividad enzimática.

La síntesis de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, tanto de la serie omega-3 como omega-6 utilizan la misma vía de elongación, desaturación y retro-conversión peroxisomal (4). Las enzimas más importantes en los procesos de desaturación son la Δ -5 y la Δ -6 desaturasa. El proceso de síntesis de estos ácidos grasos se inicia con la Δ -6 desaturasa, que introduce un doble enlace entre los carbonos 6 y 7 del AL y ALA. Ambos precursores compiten por esta enzima. La Figura 2 resume las principales etapas metabólicas de la biosíntesis de ácidos grasos omega-3 y omega-6, y el efecto de competencia entre sus precursores (5).

La afinidad de la Δ -6 desaturasa por el ALA es mucho mayor que por el AL (3). Por eso si el aporte de ALA es muy alto se ve disminuida la síntesis de derivados del AL. Por el contrario, si el aporte de AL es mayor en comparación con el de ALA, la conversión de ALA hacia sus derivados estará limitada. Este hecho ocurre en el mundo occidental ya que la dieta contiene de 10-20 veces más ácidos grasos omega-6 que omega-3 (4). Además hay que añadir el contenido de ácidos grasos del plasma y muchos otros tejidos donde también predominan los ácidos grasos de la serie omega-6, excepto el cerebro y la retina, que son tejidos ricos en omega-3 (4). Debido a la competencia enzimática, una ingesta elevada de EPA y DHA se traduce en un descenso de la concentración de ácido araquidónico y un aumento de la de EPA y DHA en los tejidos. Suplementar con DHA la dieta también va acompañado de un aumento de EPA,

lo cual se podría explicar por la retroconversión de DHA a EPA ó por la activación de la vía del ALA (6).

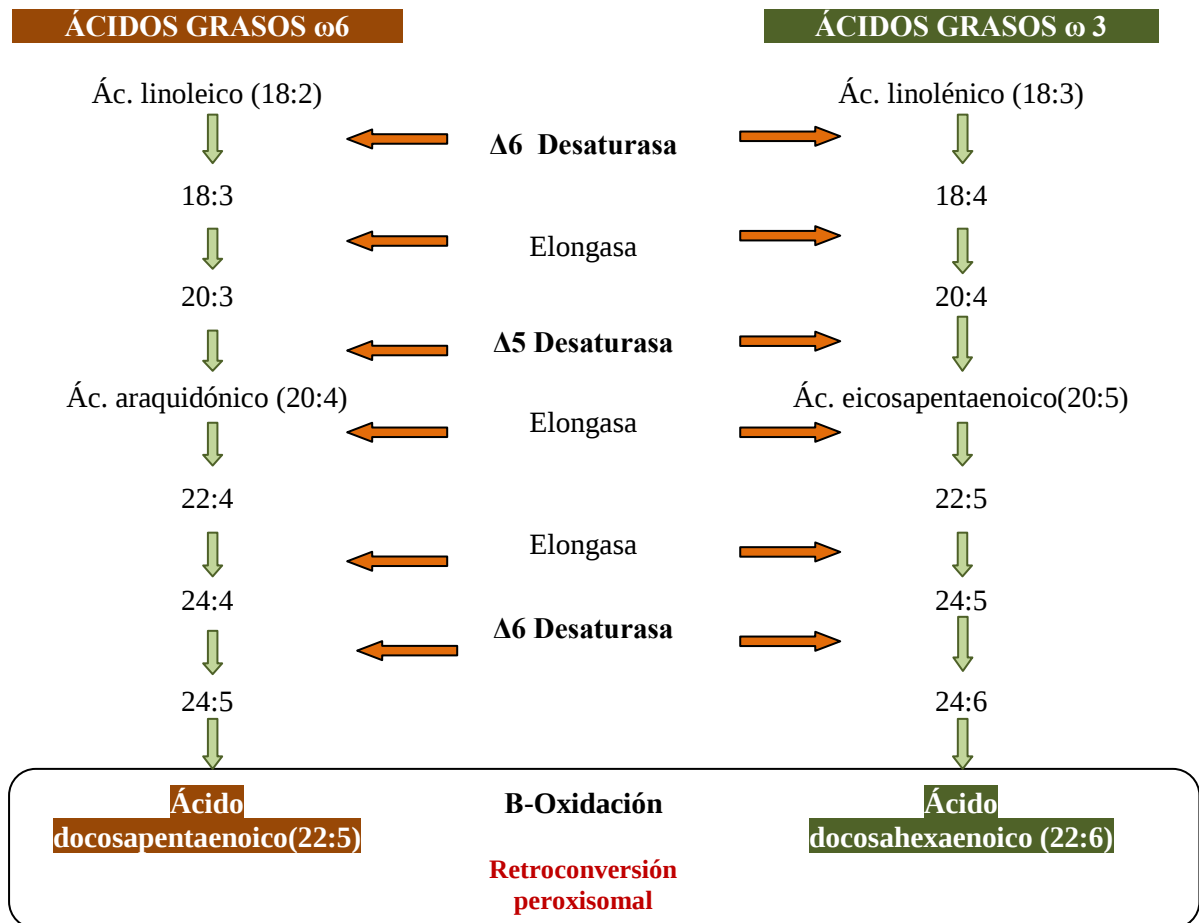


Figura 2. Etapas metabólicas de la biosíntesis de ácidos grasos omega-6 y omega-3.

1.1.3. Fuentes de DHA e ingesta diaria recomendada.

Los ácidos grasos poliinsaturados están presentes especialmente en el pescado graso y en los aceites de semillas. A este grupo pertenecen los ácidos grasos esenciales, como ya hemos mencionado.

El ácido linoleico (AL), precursor de los ácidos grasos de la serie omega-6, se encuentra fundamentalmente en los aceites vegetales de soja, maíz y girasol. Mientras que el ácido linolénico (ALA), precursor de los de la serie omega-3, se encuentra en numerosos vegetales, como la linaza, la canola, las semillas de calabaza o las nueces.

Las fuentes alimentarias de EPA y DHA se encuentran principalmente en peces azules y de agua fría (sardinas, salmón, caballas, arenques) (7).

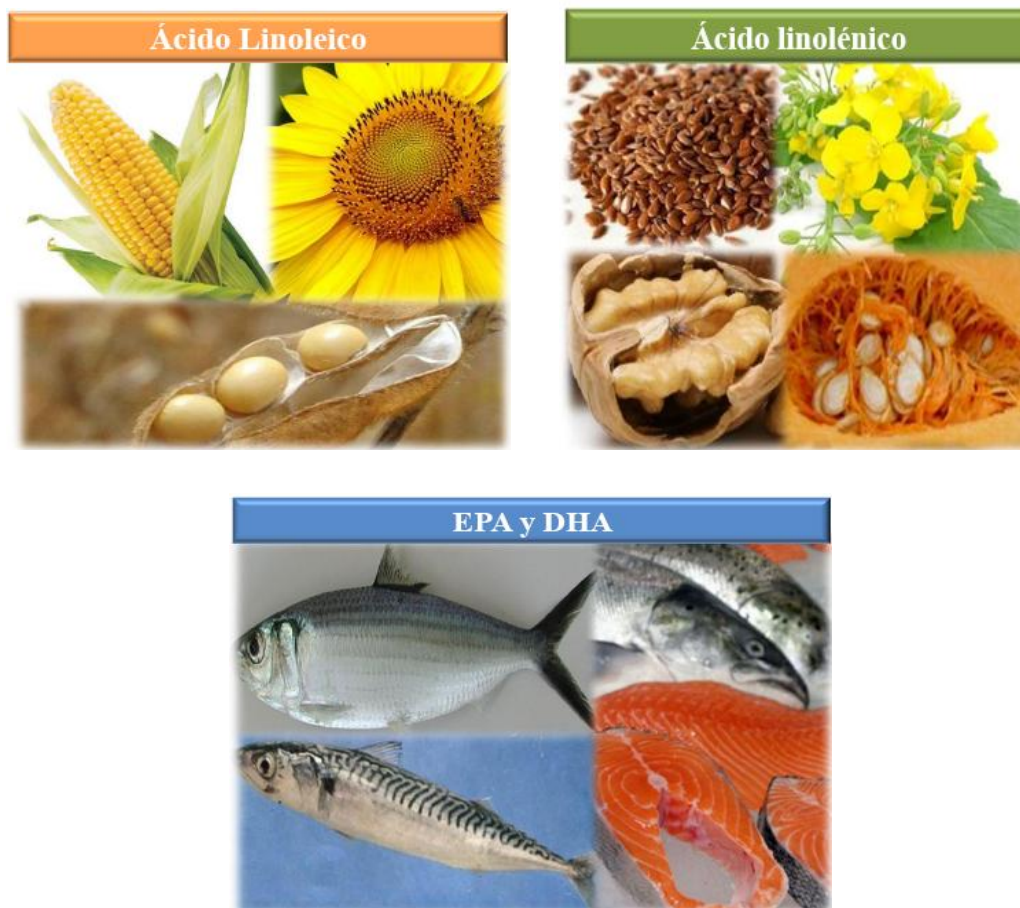


Figura 3. Fuentes de ácidos grasos poliinsaturados.

Hay ciertas limitaciones para utilizar el pescado como única fuente de EPA y DHA. Una de ellas son los contaminantes que puede contener como el Dicloro Difetil Tricloroetano (DDT), los bifenilos policlorados (BPCs), los polibromodifenil éteres (PBDEs) (8) ó la presencia de metales pesados (plomo, cromo, mercurio, cadmio, arsénico). No obstante, se ha visto que la toxicidad de metales pesados por el consumo de suplementos de aceite de pescado es muy poco probable, ya que los metales pesados se unen selectivamente a la proteína de la carne del pescado, en lugar de acumularse en el aceite. La mayoría de los estudios publicados al respecto concluyen que son mayores los beneficios que obtenemos del consumo de pescado que los perjuicios (9-11). La diferencia entre estos estudios con los que han encontrado efectos adversos (12) se encuentran en el tipo de pescado consumido por la población estudiada. Las grandes especies depredadoras y longevas como la ballena son las que contienen en su carne la mayor concentración de mercurio.

El comité de expertos de la FAO/OMS recomienda que la cantidad de contaminantes del pescado y otras fuentes dietéticas no exceda la ingesta provisional tolerable de exposición mensual, con las siglas en inglés PTMI, de 70 pg/kg en mujeres embarazadas (13). Para el mercurio en el año 2012 la Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos (EFSA) actualiza sus cifras y propone que la ingesta semanal tolerable (IST o TWI en inglés) de metilmercurio sea de 1,3 µg/kg de peso corporal y mantiene la de Mercurio inorgánico en 4 µg/kg (14). Cifras que coinciden con las recomendaciones de la OMS (15). Estos valores suponen una ingesta de 9,1 y 28 µg por persona (de 60 kg de peso) cada semana de metilmercurio y mercurio inorgánico, respectivamente. Los límites máximos de mercurio en alimentos vigentes actualmente son (16):

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

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

0,10 mg/kg: Complementos alimenticios.

Con el objeto de compatibilizar el beneficio de un consumo de pescado semanal alto con una exposición de metilmercurio adecuada, la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) (17) recomienda a las mujeres embarazadas (o que puedan llegar a estarlo), mujeres en fase de lactancia y niños menores de tres años evitar el consumo de especies de pescado con contenidos de mercurio más altos: pez espada, tiburón, atún rojo y lucio. En el caso de niños de edades comprendidas entre los 3 y 12 años, la recomendación es limitar su consumo a 50 gr a la semana, o 100 gr cada dos semanas, de estas especies de pescado.

Otros de los motivos que pueden limitar el consumo de pescado como fuente exclusiva de omega-3 se explican a continuación. Uno de ellos es su mayor coste sobre otros alimentos lo que hace que sea inaccesible o producto de consumo extraordinario para familias con menores recursos económicos. Además hay que añadir que se necesita un consumo elevado de pescado sobre todo azul (sardina, atún, verdel, arenque, anchoa, jurel) y también salmón para alcanzar las cantidades diarias recomendadas de estos ácidos grasos y asegurar el aporte suficiente de DHA.

La biodisponibilidad de DHA y EPA también varía según el tipo del pescado que se consuma ya que no todos los aceites de pescado se digieren por igual. El EPA y DHA contenido en el pescado se encuentra principalmente en forma de triglicéridos (18) lo que puede disminuir su disponibilidad.

Los ácidos grasos omega-3 presentes en los alimentos y suplementos dietéticos están principalmente en forma de triacilgliceroles (TAGs) y como ácidos grasos libres o unidos a fosfolípidos. En menor cantidad, podrían encontrarse también en forma de éster etílico en suplementos concentrados sintéticamente. Comparando las diferentes formas de encontrarlos en la dieta, se observa que cuando están en forma de éster etílico se absorbe y se incorpora menos cantidad de EPA y DHA a las membranas y tejidos celulares. Mientras que cuando van unidos a fosfolípidos se observa mayor absorción e incorporación de DHA y EPA a las membranas y tejidos celulares, siendo también

superior si se compara con la forma de TAGs (6) aunque no todos los estudios comparten este argumento (18).

La tendencia en la dieta occidental es a consumir mayor cantidad de ácidos grasos omega-6 y menos de omega-3. En nuestro país según el estudio de evaluación nutricional llevado a cabo por la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición la proporción de ácidos grasos en la dieta media es satisfactoria, posiblemente debido al alto consumo de aceite de oliva por la población española. Según datos de este estudio (18), más del 40% de la energía aportada por la grasa total ingerida se debe a ácidos grasos monoinsaturados, entre el 26-30% a ácidos grasos saturados y entre el 13 y el 15% a ácidos grasos poliinsaturados. La ingesta observada de ácidos grasos poliinsaturados oscila entre 12 y 17 gramos/día, siendo ligeramente inferior en mujeres. Los grupos de alimentos que contribuyen en un porcentaje mayor a la ingesta diaria de ácidos grasos poliinsaturados son las grasas y aceites (22%), cárnicos y derivados (19%), las legumbres, semillas, frutos secos y derivados (15%), pescados (14%) y huevos (11%) (19). La ingesta de ácidos grasos procedentes del pescado es menor frente a otras fuentes alimentarias menos ricas en ácidos grasos omega-3.

El panel de expertos de la EFSA (6;20) observa que la ingesta media de ácidos grasos de cadena larga omega-3 en adultos es generalmente inferior a 1200 mg/día e inferior a 1300 mg/día cuando se consideran también los suplementos dietéticos. Mientras que en las poblaciones consumidoras de grandes cantidades de pescado, la ingesta diaria de AGPI-CL omega-3 procedente de la dieta sólo es menor de 2,7g/día. Actualmente, para paliar esta ingesta deficitaria ya que son ampliamente conocidos los beneficios atribuidos a estos ácidos grasos, se pueden encontrar multitud de alimentos enriquecidos con aceite de pescado o con omega-3, sobre todo EPA y DHA. Zumos, productos lácteos, pan, margarinas, huevos, etc.

No existe unanimidad en cuanto a la ingesta diaria recomendada de ácidos grasos omega-3. Las recomendaciones dietéticas de organismos nacionales e internacionales sobre la ingesta de ácidos grasos de cadena larga omega-3, principalmente EPA y DHA, varía entre 200-600 mg al día para adultos y entre 40-250 mg al día para lactantes mayores de 6 meses, niños y adolescentes (6). Estas recomendaciones se basan en la relación observada entre la ingesta de ácidos grasos omega-3 y el menor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Según las recomendaciones dietéticas del Comité Nutricional de la Asociación Americana del Corazón (AHANC), consumir pescado al menos 2 veces por semana ó 500 mg al día de AGPI-CL omega-3 previene y reduce el riesgo de padecer enfermedades cardíacas. El panel de expertos de La Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos recomienda una ingesta de 250 mg al día de AGPI-CL omega-3 en contraste con las Recomendaciones Dietéticas Diarias para adultos en Australia que recomiendan 610 mg de EPA y 430 mg de DHA al día para reducir el riesgo cardiovascular (1). Mientras que para conseguir su acción antiinflamatoria se recomienda una ingesta entre 500-1000 mg de ácidos grasos omega-3 al día (21).

A su vez, se han hecho recomendaciones específicas para determinados grupos poblacionales. La ingesta de DHA en lactantes y niños de 6 a 24 meses de edad debe estar entre 70-100 mg al día basándose en su acumulación en el sistema nervioso central y sus efectos sobre el desarrollo visual durante el periodo de la alimentación complementaria (6). Las fórmulas infantiles deben contener al menos un 0,2% del total de ácidos grasos como DHA y un 0,35% como ácido araquidónico (1). En el caso de las mujeres embarazadas y durante el periodo de lactancia también se recomienda una ingesta adicional de DHA de 100-200 mg al día para compensar las pérdidas oxidativas del DHA y su acumulación en el feto (6).

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

Autoridad	Recomendación
Expertos FAO/OMS en grasas y ácidos grasos (2010) (22)	0-6 m: DHA 0,2-0,36% y ARA 0,4-0,6% del total de ácidos grasos. 6-24 m: 10-12 mg DHA/kg de peso corporal total.
EFSA (Autoridad europea de alimentos y seguridad alimentaria) (2012)	0-6 m: DHA 0,32% de los ácidos grasos para el desarrollo visual. 7-24 m: 100 mg DHA/d.

Hay escasos datos sobre los efectos adversos de la administración de suplementos con altas dosis de DHA a largo plazo. A este respecto el panel de expertos de la EFSA considera que la ingesta de suplementos dietéticos de DHA de hasta 1 gramo al día no supone riesgo para la población en general. En este mismo informe se constata que ingestas de hasta 600mg/día de DHA no causan efectos adversos en niños y que incluso se han observado en algunos niños ingestas superiores (1400-1700mg/día) sin efectos adversos. En una revisión sistemática (23) de estudios de suplementos con DHA durante la gestación, se concluye que la ingesta de 1 gramo a 2,7 gramos al día de AGPI-CL omega-3 no produce efectos dañinos. Sin embargo, las recomendaciones diarias de DHA para los adultos y niños europeos se encuentran por debajo de esta cifra (6).

1.1.4. Funciones generales de los Ácidos Grasos Omega-3.

1.1.4.1. Estructura y función de las membranas celulares.

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 son importantes componentes estructurales de las membranas celulares encontrándose como fosfolípidos de membrana (ácidos grasos esterificados) o como moléculas libres (24). La incorporación

de ácidos grasos poliinsaturados libres a los fosfolípidos de membrana parece modular las propiedades físicas de las membranas. Son capaces de influir en el ensamblaje de los fosfolípidos de membrana reduciendo las interacciones de Van der Waals (25). Contribuyen a varias de sus funciones como son la fluidez, la permeabilidad, la actividad enzimática y de receptores y la transducción de señales (4). Los cambios en la permeabilidad parecen depender directamente del grado de desaturación de los ácidos grasos (24). Destacan por su importancia biológica, los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). Se ha visto que el papel que juegan los ácidos grasos en la organización de la estructura de las membranas sigue el siguiente orden: ácido esteárico < ácido oleico < EPA ≤ DHA (25). En cuanto al papel sobre la permeabilidad de las membranas también se ha visto que el DHA tiene mayor efecto que otros ácidos grasos como el ácido linolénico (26). Además de esta función estructural, también muestra un papel importante en la regulación de la expresión génica. Ambos EPA y DHA son incorporados a las membranas celulares y por eso, pueden influir sobre el metabolismo celular, la transducción de señales y la expresión de genes (6). Por ejemplo en la transducción de señales se ha visto que el EPA y el DHA, aunque este último con más potencia, son capaces de disminuir la fosforilación de JAK1, JAK3, STAT5, ERK1/2 y Akt inducida por la IL-2, disminuyendo la estimulación de esta citoquina sobre la proliferación de linfocitos (27). También se ha sugerido su relación con la activación del factor de transcripción NF-κB involucrado en la producción de citoquinas por macrófagos tras estimulación con lipopolisacáridos objetivándose una disminución de la expresión de mRNA de TNF-α, IL-1β e IL-6, siendo el efecto del DHA más potente que el de EPA (24). También los efectos moduladores del DHA y EPA sobre la inmunidad ocurren por cambios en la expresión génica (24). La expresión de genes relacionados con la transducción de señales, la supervivencia celular, la apoptosis y la producción de citoquinas se ve alterada por el EPA y DHA. El DHA estimula la expresión de genes relacionados con la defensa y reparación, mientras que el EPA se ha visto que está relacionado con la expresión de otros genes (28). Además también afectan a la expresión génica de factores de transcripción, adhesión celular, citoesqueleto y receptores hormonales (28).

1.1.4.2. Función visual y cerebral.

El desarrollo y maduración del Sistema Nervioso tiene lugar en un espacio temporal muy amplio aunque muchos eventos cruciales de este ocurren durante el embarazo y los primeros años del bebé. El crecimiento del cerebro es muy rápido entre la semana 20 de gestación y los 2 años de edad. Aumenta en un 64% su tamaño durante los tres primeros meses de vida (29). En estas etapas hay un periodo llamado ventana de sensibilidad, en el cual la aportación de ciertos nutrientes o estímulos puede influenciar y promover el desarrollo neurológico y la capacidad funcional cerebral. Se han descrito diferentes nutrientes que tienen un papel crucial en el desarrollo del sistema nervioso dentro de los cuales destacan los ácidos grasos de cadena larga, como el ácido nervónico y el DHA, la colina, el hierro y el zinc.

El DHA forma parte de los lípidos estructurales de las membranas celulares, especialmente de los fosfolípidos del tejido nervioso y la retina (1) donde se han determinado niveles elevados de DHA, especialmente en la materia gris y en los fotoreceptores, por ello se cree que es esencial para su desarrollo óptimo (20;30-33). De forma similar, se han registrado altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en los ganglios basales, corteza frontal y occipital, hipocampo y tálamo en estudios realizados en crías de babuinos y ratas lo que sugiere que afecta a la integración sensorio-motora y a la memoria (34-36). El área cognitiva, social, el desarrollo motor y la comunicación dependen del desarrollo del cerebro. La estimulación y la nutrición óptima (37) resultan esenciales. Se ha demostrado que los bebés que reciben cantidades adecuadas de ácidos grasos de cadena larga omega-3, especialmente de DHA, muestran un mejor desarrollo en estas áreas (38-43). Por ello, se sugiere que el DHA es imprescindible para el crecimiento y la función del tejido neuronal, así como visual (44). Estos beneficios persisten más allá de la niñez (39;45), por eso que existan recomendaciones sobre el DHA como elemento fundamental de la dieta de los lactantes y niños con el fin de apoyar el desarrollo del cerebro (46).

A pesar de estos datos que destacan la importancia del DHA en el desarrollo del tejido cerebral, queda bastante por aclarar sobre los mecanismos celulares involucrados. El DHA influye directamente en la biosíntesis de neurotransmisores, en la transducción de señales, en la secreción de serotonina, en el ensamblaje de receptores beta-adrenérgicos y serotoninérgicos y en la actividad mono-amino oxidasa (47). Parece tener importantes propiedades como capturador de radicales libres, protegiendo contra el daño oxidativo en cerebros tanto de adultos como en desarrollo. Destaca también su papel en la plasticidad neuronal, proceso que permite el reemplazo de circuitos neuronales dañados y la reorganización de los existentes. El DHA mediante su combinación con glicerofosfocolina y fosfatidilserina, favorece la formación de fosfolípidos de membrana para la expansión celular nerviosa (48). También se ha visto que el DHA juega un papel en la migración celular durante el desarrollo cerebral (49). Por otro lado, estudios en animales han demostrado que la administración de DHA durante la gestación y la lactancia se asocia a un aumento de la densidad de espinas dendríticas en el hipocampo (50) y de algunas proteínas sinápticas en el cerebro de ratas destetadas. Sin embargo su depleción se ha asociado con menor tamaño del soma de las neuronas (51) y a alteraciones en la densidad de las vesículas sinápticas, crecimiento y supervivencia de las neuronas. Otros estudios no sólo demuestran que la suplementación con DHA promueve significativamente el crecimiento neuronal y la sinaptogénesis sino que también incrementa el nivel de proteínas pre y postsinápticas involucradas en la transmisión sináptica y potenciación a largo plazo que está relacionada con una mejor función de la sinapsis (52).

1.1.4.3. Regulación de eicosanoides (1) y otros mecanismos antiinflamatorios.

Los ácidos grasos omega-3 también regulan la producción de eicosanoides derivados del ácido araquidónico (ARA). Los eicosanoides son un grupo de sustancias biológicamente activas que incluyen prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y

leucotrienos. Participan en el control de la presión arterial, función renal, coagulación sanguínea y reacciones inflamatorias (53) e inmunológicas, entre otras.

El EPA también puede producir eicosanoides. De él derivan los eicosanoides de la serie 3 que incluye la prostaglandina PGE₃, la prostaciclina PGI₃, el tromboxano TXA₃ y el leucotrieno LTB₅. La síntesis de estos eicosanoides requiere de la participación de diversas enzimas, ciclooxygenasas y lipoxigenasas, que carecen de especificidad por lo que puede existir competencia entre distintos sustratos para formar eicosanoides.

El EPA compite con el ácido araquidónico (ARA) para estimular la producción de prostaglandinas de la serie 3 y leucotrienos de la serie 5 que tienen una menor acción inflamatoria que los eicosanoides derivados del ARA. La suplementación con DHA induce cambios en el metabolismo del ácido araquidónico y en el balance de los eicosanoides sintetizados a partir de los ácidos grasos omega-3 y omega-6. Por eso puede influir sobre las funciones que regulan estos eicosanoides (6). Una vez más el tipo de ácidos grasos que se consumen con la dieta puede influir sobre la producción de eicosanoides pro o antiinflamatorios (54-58).



Figura 4. Eicosanoides derivados de los ácidos grasos de las familias ω -6 y ω -3.

La cantidad de ácido araquidónico contenido en las células inflamatorias se ve influenciado por la cantidad de ácido linoleico contenido en la dieta aunque la dosis a la que se establece esta relación no ha sido definida en humanos. No obstante, el papel del ácido araquidónico como precursor para la síntesis de eicosanoides proinflamatorios refleja la potente influencia de los ácidos grasos omega-6 de la dieta sobre los procesos inflamatorios (53).

La incorporación de EPA y DHA en las células inflamatorias ocurre de un modo dosis dependiente y es parcialmente a expensas del ácido araquidónico. La suplementación con aceite de pescado ha demostrado una reducción de los eicosanoides de la serie 2 (PGE₂, tromboxano B₂, LTB₄, ácido 5- hidroxieicosatetraenoico y LTE₄) por células inflamatorias debido a una reducción del sustrato disponible para la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico.

Aunque los ácidos grasos pueden modular la cantidad y tipo de eicosanoides producidos, también puede producir estos efectos por mecanismos independientes a los eicosanoides que incluyen la acción sobre receptores, sobre las vías de señalización intracelular y la actividad de factores de transcripción (28). También se ha demostrado que los ácidos grasos omega-3 pueden reducir la concentración de proteína C reactiva (PCR), citoquinas (53), quimioquinas y otros biomarcadores inflamatorios. Además el EPA y el DHA son productores de los mediadores lipídicos denominados resolvinas y protectinas que tienen efecto antiinflamatorio e inmunomodulador (7). Estos efectos se desarrollan más ampliamente en el apartado DHA e inflamación.

1.1.4.4. DHA y estrés oxidativo.

Los ácidos grasos omega-3 se han considerado efectivos en la prevención de muchas enfermedades por sus efectos antioxidantes (59). Sin embargo, existe controversia al respecto. El DHA, al ser un ácido graso muy insaturado, es muy susceptible a la peroxidación lipídica. Por ello, hay que garantizar la seguridad al usar

suplementos con AGPI-CL, ya que se podrían generar radicales libres que afectarían a los tejidos. No obstante, tras diferentes estudios en niños, no se han detectado anomalías entre las concentraciones primitivas de lípidos peroxidados ni en la actividad enzimática antioxidante. Estudios randomizados en los que se ha administrado hasta 1g/d de DHA o 2-7 g/d de AGPI-CL omega-3 no observan efectos adversos, incluso tampoco en embarazadas (60).

El embarazo es un estado en el que hay una alta demanda metabólica y aumento en la producción de radicales libres. Se ha observado mayor agresión por radicales libres en mujeres gestantes que en mujeres no gestantes. El parto es un momento en el que también se produce un mayor daño oxidativo tanto en la madre como en el recién nacido siendo mayor en el recién nacido prematuro (61;62). Estudios llevados a cabo en animales han puesto de manifiesto un aumento de la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD), que tiene un papel importante como antioxidante, en cerebros de ratas tras ser suplementadas con DHA durante el desarrollo postnatal (63). En un estudio posterior en embarazadas, se ha sugerido que la ingesta de aceite de pescado durante el embarazo podría actuar como antioxidante en esta etapa aunque sin resultados del todo concluyentes (64).

1.1.4.5. Prevención y otros beneficios en diversas patologías.

Estos hallazgos han hecho que diversos estudios hayan puesto de manifiesto el efecto beneficioso de los ácidos grasos en enfermedades inflamatorias (53;65) y autoinmunes como el Lupus Eritematoso (7), el Asma, la Fibrosis Quística (66), la enfermedad pulmonar obstructiva (1), la Artritis Reumatoide (53), la Esclerosis Múltiple (1;67-69), la Colitis Ulcerosa (70) y Enfermedad de Crohn (53) y la Diabetes Mellitus tipo 2 (67;71).

Ampliamente conocidos también son los efectos beneficiosos que los ácidos grasos omega-3 han demostrado sobre enfermedades cardiovasculares (72) poniéndose de manifiesto en algunos estudios su potencial para disminuir el riesgo de mortalidad

cardiovascular (73). En una reciente revisión se ha puesto de manifiesto que los ácidos grasos libres omega-3 son eficaces en la reducción de los niveles de triglicéridos y otros lípidos en pacientes con hipertrigliceridemia y pacientes con riesgo cardiovascular elevado tratados con estatinas (74). Sin embargo en otros estudios sobre formulaciones de AGPI-CL y riesgo cardiovascular se ha concluido que formulaciones compuestas por EPA y DHA disminuyen los niveles de triglicéridos pero pueden aumentar los de LDL colesterol, no pasa esto con el EPA administrado en solitario (75-77). Además, ambas formulaciones a las dosis en las que disminuyen los niveles de triglicéridos han demostrado disminución de los eventos cardiovasculares con discrepancia en algunos estudios (75;76). Los AGPI-CL omega-3 no sólo reducen la concentración de triglicéridos también disminuyen la producción de agentes quimiotácticos, factores de crecimiento, moléculas de adhesión, eicosanoides inflamatorios y citoquinas inflamatorias, disminuyen la presión arterial, incrementan la producción de óxido nítrico, mejoran la relajación endotelial y compliance vascular, disminuyen la trombosis y arritmias cardíacas (55;78). Aunque aún no está del todo claro el mecanismo por el cual estos ácidos grasos ejercen su efecto protector, se han propuesto los mecanismos antiinflamatorios que estos ácidos grasos producen en la pared de los vasos sanguíneos (78), su ya comentado efecto hipolipemiante, la regulación sobre la producción de eicosanoides menos potentes y la inhibición de la producción de citoquinas proinflamatorias entre otros (55;73), por los que también han mostrado beneficios en la enfermedad vascular periférica (55).

La suplementación con aceite de pescado también ha mostrado beneficios en procesos oncológicos (1), asociándose a reducción de la incidencia del cáncer de mama metastásico (67). En pacientes con cáncer colo-rectal (79) también se han puesto de manifiesto sus beneficios, objetivándose una reducción de marcadores inflamatorios como la IL-6 en pacientes suplementados con ácidos grasos omega-3, aunque estos beneficios dependían del tiempo de suplementación, dosis y vía de administración y tipo de tratamiento oncológico específico recibido. A parte de los ya comentados se han estudiado en la leucemia, cáncer de pulmón, cervical, neuroblastoma, linfoma, en el cáncer de páncreas, de vejiga urinaria, ovario y en el glioblastoma (80). Los

mecanismos por los que se han propuesto a los AGPI-CL como coadyuvantes en el tratamiento específico del cáncer son sus propiedades en la actividad antitumoral: antiinflamatorios (81), anti-proliferativos, pro-apoptóticos, anti-invasivos, anti-metastásicos (82) y regulación epigenética (83). En una reciente revisión sistemática en pacientes oncológicos (cáncer de pulmón, mama, colo-rectal y gastrointestinal) tratados con quimioterapia y/o radioterapia se evidencia que la suplementación con ácidos grasos omega-3 puede aportar beneficios en cuanto al mantenimiento del peso corporal, disminución de la neuropatía periférica, en la inflamación con reducción de la proteína C reactiva, mejorando la calidad de vida sobre todo por la preservación de la condición física. No obstante, son necesarios futuros estudios para establecer las recomendaciones terapéuticas del EPA y DHA en los procesos oncológicos (80).

Ácido Docosahexaenoico DHA	Ácido Araquidónico ARA
• Constituyente de membranas neuronales y retinianas • Síntesis de la membrana sináptica • Modula actividad de receptores neuronales • Mielinización • Papel en inflamación e inmunidad	• Constituyente del cono de crecimiento y sinaptosoma • Implicado en la neurotransmisión • Regulación expresión génica • Precursor de leucotrienos y eicosanoides.

Modificado de Nitida Pastor PhD. Nutrición y Neurodesarrollo. NutriNeuro Workshop. MeadJohnson. 2015

Figura 5. Principales funciones de los AGPI-CL.

1.1.5. Interacciones del DHA y otros ácidos grasos.

Estudios de suplementación han demostrado que la intervención dietética con ácidos grasos omega-3 puede variar el patrón de ácidos grasos del plasma y membrana de eritrocitos (84). Se han demostrado cambios en el patrón lipídico de recién nacidos al añadir ácidos grasos de cadena larga, tanto omega-6 como omega-3 en las fórmulas infantiles (85). Además se ha visto que regulando el contenido de AL en las mismas se incrementa la incorporación celular de DHA (86).

Los ácidos grasos del plasma y membrana de eritrocitos han sido elegidos como buenos marcadores de la ingesta de ácidos grasos aunque este último parece tener mayor valor (87;88). Diversos estudios han sugerido que el tipo de ácidos grasos consumidos con la dieta puede variar la composición de ácidos grasos de la membrana de los eritrocitos. Por ejemplo, estudios en animales han señalado que los niveles de AGPI-CL omega-3 en los tejidos pueden ser regulados alterando el balance de AL y ALA que se ingiere con la dieta. Una revisión reciente de estudios en esta línea pero en humanos sugiere que la mayoría de los estudios que incrementan la ingesta de ALA consiguen aumentar el estatus de EPA, mientras que sólo los estudios que reducen la ingesta de AL reportan aumentos del estatus de DHA (89) aunque en general los cambios no son tan potentes como los observados con la ingesta de AGPI-CL omega-3 (86). La ingesta de aceite de pescado se ha correlacionado especialmente bien con la concentración de EPA y DHA en membrana de eritrocitos (88;90;91), mientras que la ingesta de este tipo de aceites parece que se asocia inversamente con la cantidad de ARA (92). De forma similar la cantidad de ácido linolénico, ácido linoleico y ácidos grasos saturados en membrana de eritrocitos se ha asociado con la ingesta dietética de los mismos pero no demuestran que se vean influenciados por la ingesta de AGPI-CL omega-3 (91;93). También la ingesta de ácidos grasos de origen vegetal y derivados se asoció con mayor proporción en membrana de eritrocitos de ácido linoleico, linolénico y ácido nervónico que a su vez también se ve alterado en este caso de forma negativa por la ingesta de productos lácteos (90). Todos estos datos reflejan que la membrana de eritrocitos es un buen indicador de la ingesta dietética de ácidos grasos (88;90).

Takkunen y colaboradores ponen de manifiesto en su estudio que los ácidos grasos poliinsaturados del pescado y de suplementos enriquecidos con aceites de pescado se correlacionan positivamente sobre todo con la cantidad de EPA en eritrocitos, mientras que lo hace de forma negativa con los ácidos grasos de la serie omega-6. Por su parte los ácidos grasos contenidos en la carne de origen animal se asociaron con mayor proporción de ARA y menos de EPA y DHA (90). En otro estudio reciente de suplementación con ácidos grasos de cadena larga omega-3 (ALA, EPA y DHA) en niños se ha objetivado cambios en la composición de ácidos grasos de los eritrocitos. En concreto, se objetivan aumentos en la concentración de ALA, DHA y la suma total de ácidos grasos omega-3 mientras que se evidencia un descenso de las concentraciones de los ácidos grasos omega-6, ARA y C22:4 ω -6, de la suma total de ácidos grasos omega-6, del ratio omega-6/omega-3 y ARA/DHA. Sin embargo, no se encontraron diferencias en los niveles de AL, EPA ni DPA (94). Así como la ingesta de EPA y DHA se traduce en cambios en la composición de los ácidos grasos del plasma y de la membrana de eritrocitos, la ingesta de ARA no parece correlacionarse con la composición de ARA en los fosfolípidos (92).

1.1.6. DHA en el embarazo y la lactancia.

Los ácidos grasos esenciales y los derivados del ácido linoleico, serie omega-6, y ácido linolénico, serie omega-3, juegan un papel importante en la gestación. Se han asociado a mayor prolongación de la gestación, retraso del parto espontáneo y reducción de la recurrencia de parto prematuro tanto en estudios animales y humanos, mejorando los resultados neonatales (95). También es conocido que los niveles de DHA en el plasma materno durante la gestación influyen en el desarrollo de las funciones cognitivas y neurológicas del neonato. En una reciente revisión sistemática (23) de estudios de suplementación con DHA durante la gestación se reporta en la mayoría, que los tests de evaluación de desarrollo neurológico en los hijos de madres suplementadas durante la gestación presentan mayor puntuación (96;97) en comparación con los del grupo control. También se ha demostrado una relación positiva entre los niveles de

DHA en plasma de cordón umbilical y el desarrollo de habilidades cognitivas de los niños. A pesar de estos resultados sigue existiendo mucha controversia al respecto. Hay estudios que no comparten estos resultados (84;98) y otros no demuestran que esos beneficios se mantengan a largo plazo, no encontrando diferencias significativas entre grupos suplementado y control en la primera infancia (99;100).

Durante el embarazo hay una alta demanda tanto de ácidos grasos omega-6 como de omega-3 porque el feto los obtiene preferentemente de la transferencia placentaria (101), lo que condiciona que el almacén de estos ácidos grasos en el feto dependa de la ingesta materna de los mismos. La suplementación de gestantes con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 se ha asociado a aumento de las concentraciones de DHA en plasma, placenta y sangre de cordón umbilical (102). La ingesta recomendada de AGPI-CL en el embarazo no ha sido establecida por unanimidad a pesar de los beneficios demostrados en el desarrollo neurológico del feto y neonato, la prolongación de la gestación, el peso al nacimiento y también sobre el proceso inflamatorio (95). De acuerdo a la EFSA se recomienda de 125 a 500 mg al día de DHA durante el embarazo para aumentar sus niveles y cubrir las necesidades ligadas a esta etapa. Para que la embarazada pueda suplir esas altas demandas es necesario el consumo de una gran variedad de fuentes dietéticas de ácidos grasos omega-3. De ahí que se recalque la importancia de una intervención dietética adecuada que asegure una gestación con resultados beneficiosos para la madre e hijo.

La lactancia es otra etapa en la que la ingesta de DHA resulta beneficiosa para la madre y para el niño. El DHA también está presente en la leche materna, pero no en todas las fórmulas infantiles. Contiene ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, omega-6 y omega-3, que constituyen el 2% del total de ácidos grasos. También, contiene componentes que juegan un papel inmunológico específico como son citoquinas, factores de crecimiento, leucocitos, inmunoglobulinas, proteínas como la lactoferrina y lisozimas. La presencia de citoquinas en la leche materna contribuye al desarrollo del sistema inmune neonatal y confiere protección al niño que en estas etapas carece de una red de citoquinas maduras (103). Aún en concentraciones fentomolares

son capaces de regular la acción y las propiedades de las células del sistema inmune. Mediante diversos métodos un amplio rango de citoquinas, tanto proinflamatorias como antiinflamatorias ha sido detectado en leche materna en diversos estadios del periodo de la lactancia. Algunas de ellas son la interleuquina (IL) 1- β , la IL-6, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) (104).

Los ácidos grasos presentes en la leche materna también parecen jugar un papel importante en la maduración y función del sistema inmune. La lactancia materna exclusiva durante los primeros meses de vida no sólo ha demostrado protección frente al desarrollo de varios tipos de infecciones (respiratorias, gastrointestinales, urinarias, otitis media y enterocolitis necrotizante) (105;106) sino también protección frente al desarrollo de enfermedades alérgicas. Por eso y otros motivos, la leche materna es el alimento ideal para el recién nacido (107) ya que aporta los nutrientes necesarios para un correcto desarrollo y crecimiento del mismo. Cuando no pueden ser alimentados con leche materna, los sustitutos de ésta pasan a ser esenciales y es importante conocer su composición.

La membrana de eritrocitos de los niños alimentados con lactancia materna tienen un porcentaje de ácidos grasos omega-3 significativamente mayor, especialmente de DHA, que aquellos niños que son alimentados con fórmulas no suplementadas (108). Así, la concentración de DHA es mayor en plasma, en eritrocitos y sistema nervioso de niños amamantados que en aquellos alimentados con fórmula. Sin embargo, tienen niveles similares de ácido araquidónico (ARA) (109). Son numerosos los factores que influyen en el contenido de ácidos grasos de la leche materna, pero parece tener mayor peso la cantidad de DHA que ingiere la madre (110;111). Se ha demostrado que la composición de ácidos grasos poliinsaturados de la leche materna está parcialmente determinada por el contenido de AGPI-CL de la dieta. Existe una correlación entre los niveles de DHA en leche materna y los niveles de éste en sangre. Craig L Jensen y colaboradores (2002) (110;112) encontraron que los grupos de madres suplementadas con DHA tenían mayores niveles de DHA en plasma y en leche materna. De forma similar, aunque más débilmente también encontraron una relación entre la cantidad de

DHA encontrado en la leche materna y en el plasma del niño. Otros estudios de suplementación también encuentran una relación positiva entre la suplementación con aceite de pescado y la reducción del ratio omega-6/omega-3 en plasma de madre y sangre de cordón umbilical (113).

El principal problema se plantea por los bajos niveles de consumo de DHA en la dieta occidental, donde hay un desequilibrio en la ingesta de omega-6 y omega-3, a favor de los primeros. Estudios recientes han demostrado que la dieta de mujeres gestantes y en periodo de lactancia de países occidentales, contiene sólo de un 20% a un 60% de las cantidades diarias recomendadas de ácidos grasos omega-3 (109). En un estudio realizado en población adulta española en el año 2013 se recogía que la ingesta total de ácidos grasos omega-3 era de $1,8 \pm 0,60$ g/día (ALA: $1,3 \pm 0,32$, EPA: $0,16 \pm 0,14$, y DHA: $0,33 \pm 0,21$ g/día) mientras que la de omega-6 era de $11,0 \pm 2,7$ g/día (LA: $10,8 \pm 2,7$ g/día). Una alta proporción de participantes no cumplían con la ingesta ideal de ácidos grasos omega-3 (84,7 %), ALA (45,0 %), y EPA+DHA (62,9 %). Las principales fuentes de ALA fueron los aceites, productos lácteos y la carne. Para EPA fue el pescado; para el DHA también el pescado, los huevos y la carne y por último para LA fueron los aceites, la carne y los cereales. Se concluyó que a pesar de una ingesta elevada de alimentos ricos en omega-3 se podía mejorar la ingesta de los mismos (114). Ya hemos comentado que los ácidos grasos omega-3 y omega-6 son esenciales y que su síntesis en el ser humano es limitada, por lo que su ingesta con la dieta es lo más eficiente. Un aporte dietético constituido mayoritariamente por ácidos grasos omega-6, como ocurre en nuestra dieta, puede inhibir significativamente la formación endógena de ácidos grasos omega-3, en especial de EPA y DHA dada la competencia enzimática, ya comentada, entre sus precursores. Esto cobra mayor interés en el feto y recién nacido en desarrollo, especialmente en los recién nacidos prematuros o pequeños para la edad gestacional (31). Debido a la limitada capacidad de síntesis de estos ácidos grasos (20) en el neonato existe una dependencia exclusiva de la transferencia placentaria y de la leche materna, y por lo tanto su administración a través de la dieta de la madre se hace fundamental. Un consumo limitado en la mujer gestante o en etapa de lactancia puede asociar un déficit en la disponibilidad de DHA para un desarrollo neurológico e

inmunológico óptimo del feto y recién nacido. Por eso, en estas etapas una intervención nutricional preventiva adquiere especial interés ya que la grasa que ingiere la madre gestante y lactante va a tener una gran influencia por un lado sobre el desarrollo del feto y por otro sobre la composición lipídica de la leche materna y por tanto sobre la nutrición del recién nacido en sus primeras etapas (115;116).

1.2. DHA E INFLAMACIÓN.

La inflamación forma parte de la respuesta normal del organismo ante una lesión o infección. Sin embargo, cuando se produce de modo incontrolado o inapropiado puede causar daños en los propios tejidos contribuyendo al desarrollo de una amplia variedad de trastornos crónicos y agudos. Se caracteriza por la producción de citoquinas inflamatorias, eicosanoides derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos), especies reactivas de oxígeno (ROS) y adhesión molecular (53;117).

La señalización inflamatoria es bastante amplia y compleja. En este estudio nos hemos centrado en las citoquinas, uno de los mecanismos mediadores en el proceso inflamatorio.

1.2.1. Citoquinas.

1.2.1.1. Concepto y funciones de las citoquinas.

La biología de las citoquinas surge a raíz de estudios de finales de los años 60 y la década de los 70 donde se describen las propiedades biológicas de factores solubles secretados en el sobrenadante de cultivos celulares tras la estimulación celular. Originariamente se definieron por las actividades biológicas que eran capaces de promover en distintos ensayos in vitro. Estos factores eran nombrados una vez se conocía el tipo de célula al que afectaban y su función. Así por ejemplo, se acuñó el

término de factor activador de linfocitos, factor quimiotáctico de los macrófagos y factor agregador de macrófagos. Esta nomenclatura dio lugar a varios términos según el campo de estudio de interés de cada investigador, linfoquinas, interleuquinas, monoquinas, factores estimuladores de colonias, interferones, factores de crecimiento y quimioquinas. En 1974 se introduce el término citoquina para contrarrestar el caos de estas categorizaciones arbitrarias (118). Hoy en día el término citoquina engloba a un grupo de familias de moléculas de bajo peso molecular, estructuralmente relacionadas y constituidas por más de 200 miembros, que se caracterizan por ser capaces de modular la actividad funcional de células y tejidos. Este papel crucial en las comunicaciones celulares hace que las citoquinas sean dianas de intervenciones terapéuticas en muchas enfermedades como infecciones, procesos inflamatorios crónicos y autoinmunes, cicatrización de heridas y las neoplasias (118).

Son proteínas o glicoproteínas formadas por 120-180 aminoácidos y producidas en su mayoría por leucocitos, aunque hay otros tipos celulares que pueden secretarlas. Este grupo de proteínas incluye interleuquinas, interferones, factores estimulantes de colonias y quimioquinas. Las interleuquinas son el mayor grupo de moléculas de citoquinas que estimulan la proliferación y diferenciación de células inmunes. Las células que segregan interleuquinas incluyen macrófagos (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18), células B (IL-10, IL-12), células Th1 (IL-2), células Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13), mastocitos (IL-4), células dendríticas (IL-6, IL-12, IL-13, IL-18, IL-23, IL-27), neutrófilos (IL-1, IL-8, IL-10, IL-12) y células NK (IL-2) entre otras (119).

1.2.1.2. Mecanismos de acción y funciones de las citoquinas.

La expresión de la mayoría de las citoquinas está estrictamente regulada. En general, es necesaria la activación celular para que se produzcan cantidades suficientes de citoquinas y que así puedan ejercer sus efectos biológicos. Poseen una vida media

muy corta y son capaces de actuar a muy bajas concentraciones, uniéndose a receptores de alta afinidad presentes en la superficie de la propia célula productora o en otras.

Las citoquinas pueden actuar de modo autocrino, uniéndose a receptores expresados en las células que las secreta, o de modo paracrino, uniéndose a receptores expresados en células presentes en su entorno inmediato. En ocasiones, aunque no es lo más frecuente, pueden actuar de modo endocrino, modulando la actividad de células ubicadas en sitios distantes, ya que también pueden liberarse a la circulación sanguínea o linfática y actuar sobre otros órganos y tejidos. Figura 6.

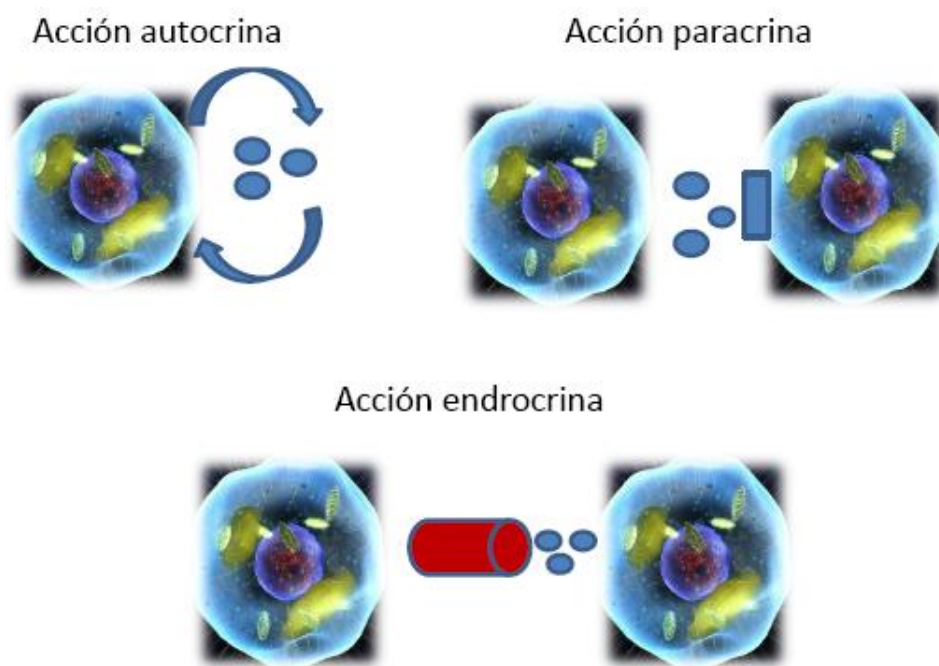


Figura 6. Formas de actuación de las citoquinas.

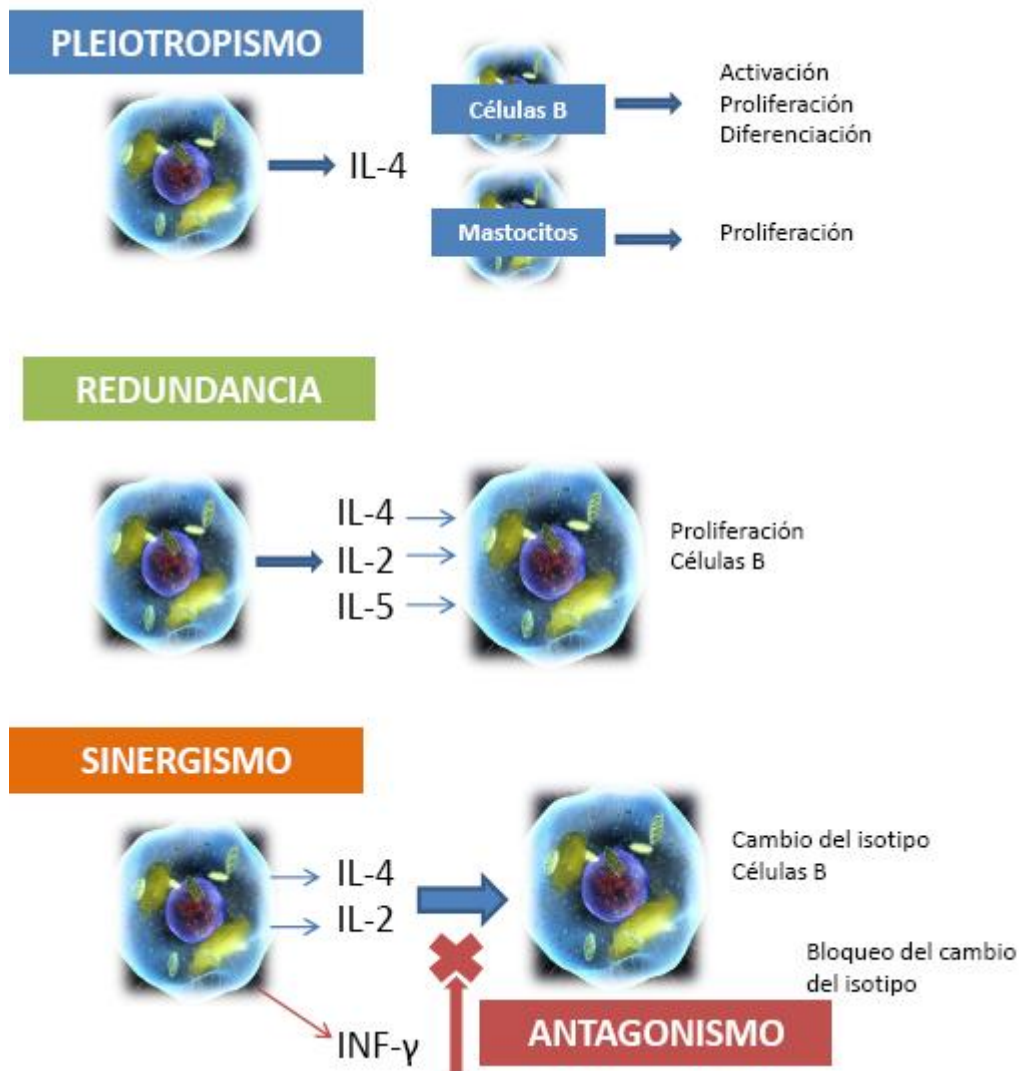


Figura 7. Acciones de las citoquinas.

Las acciones de las citoquinas se caracterizan por ser pleiotrópicas y redundantes como se refleja en la figura 7. El pleiotropismo se refiere a la capacidad que presenta una citoquina particular de mediar distintas acciones biológicas, actuando sobre diferentes células dianas. Esto se traduce en que pueden ejercer diferentes efectos biológicos según la célula sobre la que actúen. La redundancia se refiere a la capacidad de diversas citoquinas de mediar una misma acción biológica. Así en ausencia de una

determinada citoquina, sus funciones pueden ser reemplazadas total o parcialmente por otras. En este sentido suelen observarse efectos sinérgicos y antagónicos. El sinergismo hace referencia a cuando el efecto mediado por dos citoquinas, actuando de forma conjunta, es mayor que la suma de los efectos de las citoquinas actuando individualmente. Sin embargo, el antagonismo hace referencia a la capacidad de una citoquina en particular de inhibir la acción de una segunda citoquina.

Muchos son los efectos biológicos de las citoquinas. Ejercen su función actuando sobre receptores específicos de membrana y contribuyen a la activación, blastogénesis y/o diferenciación en células efectoras, regulando también otros procesos como la apoptosis, adquisición de capacidad citotóxica y la recirculación de los leucocitos. Muchas son importantes reguladores, tanto positivos como negativos, de acontecimientos celulares como la mitosis, la diferenciación, la migración, la supervivencia e incluso, de su transformación maligna. Desempeñan un papel esencial en los mecanismos efectores e inmunorreguladores, tanto de la inmunidad innata como de la respuesta inmune adaptativa. También participan en la angiogénesis y se ha visto que desarrollan un papel clave en procesos neuroinmunes y neuroendocrinos.

1.2.1.3. Clasificación de las citoquinas.

Como ya hemos comentado, las citoquinas se caracterizan por su pleiotropismo, lo cual dificulta la realización de una clasificación funcional. De un modo práctico, atendiendo a su función más relevante (120;121), podrían dividirse en los siguientes grupos: citoquinas mediadoras de la inmunidad adaptativa, mediadoras de la inmunidad innata, mediadoras de la hematopoyesis y citoquinas proinflamatorias e inmunosupresoras.

- **Citoquinas que participan en la inmunidad adaptativa.**

La activación de los linfocitos T y B en reposo requiere de una serie de señales mediadas por citoquinas para poder llevar a cabo sus acciones. En respuesta a una estimulación antigénica, los linfocitos T se activan, proliferan y se diferencian hacia células efectoras específicas. Estas células ejercen sus funciones produciendo una serie de moléculas solubles efectoras de la respuesta inmune adaptativa.

Los linfocitos T CD4+, como consecuencia de una estimulación antigénica, pueden diferenciarse hacia linfocitos T cooperadores de tipo Th1 o Th2, estando esta diferenciación en parte condicionada por las citoquinas que se encuentran en el medio. Así, la presencia de IL-12 promueve la diferenciación hacia Th1, mientras que la IL-4 condiciona el desarrollo Th2. Los linfocitos Th1, en colaboración con los macrófagos, están implicados en la respuesta inmune celular, mientras que los Th2 promueven la respuesta inmune humoral. Para llevar a cabo su función los linfocitos Th1 secretan IL-2, IFN- γ y TNF- α , mientras que los Th2 producen IL4, IL-5, IL-10 e IL-13.

Los linfocitos T CD8+ se diferencian hacia linfocitos T citotóxicos como respuesta a la estimulación antigénica y a la presencia de citoquinas secretadas por otras células. Ejercen su función efectora mediante la secreción fundamentalmente de IL-2, IL-16, IFN- γ y TNF- α .

Finalmente, hay una serie de citoquinas que pueden ser producidas por ambos tipos de linfocitos T, CD4+ y CD8+, tales como IL-2, GM-CSF y TGF- β .

- **Interleuquina 2 (IL-2):** secretada por linfocitos T CD4+ y CD8+ activados en respuesta a un estímulo antigénico. Inicialmente se describió como factor de crecimiento de células T, ya que es el principal agente que controla su proliferación. Tiene un papel esencial en el desarrollo de las respuestas inflamatorias crónicas, tanto humorales como celulares. Es un factor estimulador del crecimiento de linfocitos T, B y células NK, promoviendo la actividad citotóxica mediada por linfocitos T y células NK,

así como el desarrollo de células LAK (células asesinas activadas por citocinas). Tras unirse a su receptor de los linfocitos T, activa la secreción de IFN-alfa, linfoxina, IL-4, IL-3, IL-5 y GM-CSF. Sobre los linfocitos B estimula su crecimiento y diferenciación e incrementa la expresión de moléculas de MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) de clase II.

- **Interleuquina 16 (IL-16):** producida por los linfocitos T CD8⁺ donde se acumula y se secreta en respuesta a la estimulación con serotonina o histamina. Originariamente se identificó como factor quimiotáctico de linfocitos, recibiendo el nombre de linfoxina, debido a su efecto atrayente sobre los linfocitos T CD4⁺.

- **Interferón gamma (IFN γ):** producido por linfocitos Th1, linfocitos T citotóxicos y por células NK. Es el principal factor activador de macrófagos en los que estimula la producción de IL-1 y TNF- α . Incrementa su capacidad lítica y de defensa contra las infecciones. Induce la expresión de moléculas de histocompatibilidad de clase I y II del MHC con lo que aumenta la presentación antigénica y la activación de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺. Además posee una importante actividad inmunomoduladora. Inhibe la proliferación de los linfocitos Th2, de manera que su presencia durante la estimulación antigénica induce la diferenciación de linfocitos T hacia células efectoras tipo Th1 favoreciendo, por lo tanto, el desarrollo de las respuestas inflamatorias.

- **Interleuquina 4 (IL-4):** producida por linfocitos Th2, mastocitos, basófilos, células del estroma de la médula ósea y, posiblemente, por determinadas subpoblaciones de células NK. Es una citoquina muy pleiotrópica, ya que ejerce numerosos efectos en diferentes tipos celulares. Promueve la diferenciación de linfocitos T vírgenes hacia células de tipo Th2, inhibiendo la generación de células Th1. También, posee efectos inmunosupresores, ya que inhibe la producción de determinados mediadores inflamatorios de los macrófagos, inhibe la producción de prostaglandinas (122) e induce la producción de IL-1Ra, que bloquea la acción de la IL-1. También bloquea la producción de IL-6, IL-8 y TNF- α . Sobre los linfocitos T activados inhibe la

producción de IFN- γ , aumenta la capacidad lítica de los linfocitos T citotóxicos y sobre las células NK induce proliferación y actividad LAK, pero antagoniza los efectos de IL-2.

- **Factores transformadores del crecimiento (TGF):** se diferencian dos tipos, el TGF- α y el TGF- β . No poseen ninguna similitud estructural ni comparten los mismos efectos. El TGF- β tiene efecto inmunomodulador. Es una de las citoquinas más abundantes en la leche materna (104). Tiene efectos pleiotrópicos. Es producido fundamentalmente por linfocitos T, plaquetas y otros muchos tipos celulares. Incrementa la proliferación de fibroblastos, osteoblastos y células musculares lisas e incrementa la síntesis de proteínas de la matriz extracelular, lo que favorece la curación de las heridas. Esta citoquina tiene también efectos inmunosupresores ya que se observó que inhibía el crecimiento y la función de muchos tipos celulares. Involucrada en la protección frente a agentes adversos relacionados con la alergia en la infancia, participando en el proceso de tolerancia a los alérgenos. Se ha visto un descenso de sus niveles en hijos de madres atópicas. Estudios de suplementación con DHA en embarazadas han demostrado aumento de los niveles de TGF- β no sólo en el plasma de la madre si no también en sangre de cordón umbilical (123), lo que puede sugerir un efecto beneficio de este ácido graso en las enfermedades alérgicas. En el sistema inmune inhibe la síntesis y/o el efecto del IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-2 e IL-3, así como la citotoxicidad natural y específica.

▪ **Citoquinas producidas en las respuestas inmunes innatas.**

Estas citoquinas se producen de forma inmediata tras el contacto de las células implicadas en las respuestas inmunes innatas con un agente extraño. Actúan mediante mecanismos de acción directa frente al agente invasor ó mediante la movilización de mecanismos inmunorreguladores.

Las citoquinas que actúan en esta respuesta están producidas fundamentalmente por macrófagos, células NK, y por otras células no inmunes como fibroblastos y células endoteliales.

Las principales citoquinas que intervienen en la respuesta innata son: IL-1, IL-6, IL-12, IL-16, Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α) e Interferones alfa y gamma (IFN α e IFN- γ).

- **Interleuquina 1 (IL-1):** la superfamilia IL-1 está compuesta por 11 miembros hasta la fecha. Son la IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-33, y de la IL-1F5 a IL-1F10 ⁽¹²⁴⁾. Parte de sus efectos proinflamatorios se debe a que inducen la liberación de histamina en los mastocitos, generando vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular en el lugar de la inflamación. Es el principal pirógeno endógeno, induciendo fiebre a través de la producción de prostaglandinas. Comparte muchos de los efectos proinflamatorios con el TNF- alfa. También promueve la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actúa sobre el sistema nervioso central induciendo anorexia, hipotensión, pérdida de peso, típicamente asociados con los procesos infecciosos. Está producida fundamentalmente por monocitos y macrófagos en respuesta a productos bacterianos tales como endotoxinas, inmunocomplejos, fragmentos moleculares de degradación del complemento, en particular C5a, y citocinas, como el M-CSF, el TNF- α y el IFN- γ . Sin embargo, también puede ser producida por linfocitos B, células endoteliales y queratinocitos.

La IL-1 en bajas concentraciones tiene funciones inmunoreguladoras a nivel local actuando como coestímulo para la activación de las células T, incrementando la proliferación de los linfocitos CD4 y el crecimiento y la diferenciación de células B⁽¹²⁵⁾. Además induce el aumento de su propia síntesis y la producción de otras citoquinas, tales como IL-6 e IL8 por monocitos y células endoteliales, IL-6 por los fibroblastos o la IL-2 ⁽¹²⁵⁾ por células T. Además, estimula la expresión de receptores de citoquinas en diferentes tipos celulares, incluyendo células hematopoyéticas y células T. También actúa sobre las células endoteliales promoviendo la coagulación y la adhesión linfocitaria.

A concentraciones mayores la IL-1 ejerce una acción endocrina y provoca, a nivel sistémico, algunos de los efectos que produce el TNF- α : fiebre, síntesis de proteínas de fase aguda y caquexia. Sin embargo, tiene efectos diferentes a los del TNF- α ya que no produce daño tisular por sí misma. Tampoco incrementa la expresión de moléculas del MHC ni inhibe el crecimiento de las células hematopoyéticas de médula ósea sino que potencia las acciones de los CSF sobre estas células. Finalmente, la acción de la IL-1 es más potente que la del TNF- α como coestimulador de las respuestas de los linfocitos T.

- **Interleuquina 6 (IL-6):** junto con la IL-1 es la principal inductora de la síntesis de proteínas de fase aguda, sobre todo de fibrinógeno. Es producida por monocitos y macrófagos en respuesta a la IL-1 y TNF- α (125). Además de participar en la inflamación, promueve la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas, induciendo la producción de inmunoglobulinas. También puede aumentar la producción de IL-2 y el desarrollo de los precursores hematopoyéticos dependientes de la IL-3.

- **Interleuquina 12 (IL-12):** se describió inicialmente como el factor estimulador de las células asesinas naturales (NK), pero la actual importancia deriva de su capacidad de dirigir la diferenciación de los linfocitos Th hacia células efectoras tipo Th1 de la hipersensibilidad retardada. Esta citoquina incrementa la actividad citotóxica de las células NK e induce células LAK. Incrementa la producción de IFN- γ por linfocitos T y células NK y activa a los linfocitos T citotóxicos. Recientemente se ha descrito un factor proteico denominado p19, sin actividad biológica por sí mismo, que se combina con la subunidad p40 de la IL-12 para dar lugar a una nueva citoquina biológicamente activa denominada IL-23. Esta citoquina es producida por células dendríticas activadas, se une al receptor de la IL-12 y comparte algunas de las funciones biológicas con ella.

- **Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α):** producido por células T activadas, mastocitos y macrófagos tras estimulación por endotoxinas bacterianas como el lipopolisacárido (LPS), factor estimulador de colonias de macrófago (M-CSF), IFN- γ ,

IL-2 ó IL-15. Junto con la IL-1 está implicado en los procesos inflamatorios derivados de los procesos infecciosos, siendo responsable de los efectos sistémicos tales como la elevación de la temperatura corporal, caquexia y sueño al actuar sobre el SNC. La producción de pequeñas cantidades de TNF- α es beneficioso en respuesta a una infección, pero la sobreproducción puede conducir a daños, como ocurre en el shock, en el síndrome de distrés respiratorio del adulto y otros procesos inflamatorios donde el TNF- α está implicado (125). Ejerce numerosos efectos que son muy dependientes de su concentración. A concentraciones bajas el TNF- α actúa localmente como un mediador paracrino que induce la expresión de moléculas de adhesión y estimula la producción de IL-8 por células del endotelio vascular, lo que contribuye a la extravasación de linfocitos, neutrófilos y monocitos. También provoca activación leucocitaria y estimulación de la producción de citoquinas proinflamatorias, como IL-1, IL-6 e IL-8 en los fagocitos mononucleares. También co-estimula la activación de linfocitos T y B. En células del endotelio vascular y fibroblastos, estimula la producción de CSFs y aumenta la expresión de moléculas del MHC de clase I. Cuando las cantidades de TNF α son mayores, éste actúa de modo endocrino y provoca acciones sistémicas: estimula la producción de reactantes de fase aguda por el hígado y la producción de IL-1 e IL-6 en células del endotelio vascular; activa el sistema de coagulación y suprime la proliferación de las células progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea.

- **Interleuquina 10 (IL-10):** Es producida por linfocitos del tipo Th2, así como también por monocitos, macrófagos, linfocitos B, queratinocitos y otros tipos celulares. Tiene efectos inmunosupresores y anti-inflamatorios. Es la citoquina inmunosupresora por excelencia, inhibiendo la síntesis de citoquinas proinflamatorias, entre las que podemos citar IFN- γ , IL-2 e IL-12. En los macrófagos inhibe la síntesis de IL-1, IL-6, IL-8, y el TNF α aumenta la producción de un agente anti-inflamatorio, el factor antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra). También inhibe la expresión de MHC-tipo II y moléculas de adhesión en monocitos. Además, tiene efectos antiproliferativos sobre muchos tipos celulares. La IL-10 ejerce además múltiples actividades inmunomoduladoras. Se ha visto que es un cofactor para el crecimiento de líneas y colonias de células mastocíticas in vitro. Regula las funciones mediadas por linfocitos B

induciendo la síntesis de IgG, y por linfocitos T, influyendo en el desarrollo de timocitos y células T. También ejerce efectos reguladores sobre la angiogénesis. Relacionadas estructural y funcionalmente con la IL-10 se han descrito recientemente nuevas moléculas tales como la IL-19, IL-20 e IL-22, cuyas funciones son todavía poco conocidas.

- **Interferones alfa y beta (IFN α e IFN β):** fueron inicialmente descritos como agentes producidos por células infectadas por virus. Posteriormente se descubrió que además de su capacidad antiviral ejercían efectos reguladores sobre la proliferación y la diferenciación de varios tipos celulares y tenían capacidad de modular el sistema inmune. Se clasificaron en dos grupos. Los interferones tipo I, que incluyen el IFN- α y el IFN- β , con capacidad principalmente antiviral y antiproliferativa, y el IFN- γ (tipo II), con un mayor efecto inmunomodulador. Los interferones α o leucocitarios son producidos preferentemente por fagocitos mononucleares. Los interferones β o fibroblastoideos son producidos preferentemente por fibroblastos. Ambos interferones interaccionan con un mismo receptor. Aumentan el potencial lítico de las células NK y de los monocitos y también aumentan la expresión de moléculas clase I e inhiben la expresión de moléculas de clase II. En algunos casos se ha observado que poseen actividad antitumoral, posiblemente debido a su efecto antiproliferativo sobre las células tumorales, y modulador sobre el sistema inmune.

▪ **Citoquinas implicadas en el crecimiento y la diferenciación hematopoyética.**

Estas citoquinas promueven el crecimiento y diferenciación de las células sanguíneas maduras a partir de células madre hematopoyéticas. Son producidas por células del estroma de la médula ósea o por linfocitos maduros activados. Algunas de estas citoquinas reciben el nombre genérico de factores estimuladores de la formación de colonias (CSF) por su capacidad para estimular la formación de colonias celulares en los cultivos de médula ósea.

Las más importantes son: el Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Macrófagos (GM-CSF), Factor Estimulador de Células Precursoras, Factor Estimulador de Macrófagos (M-CSF), la IL-3, la IL- 7 y la Eritropoyetina (Epo).

- **Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Macrófagos (GM-CSF):** producido por linfocitos T activados y por otras células como fibroblastos, células endoteliales y monocitos. Induce la proliferación de los progenitores de granulocitos y macrófagos, produciéndose en respuesta a estímulos específicos en situaciones que requieren una elevada producción de éstas células. También puede actuar sobre granulocitos y macrófagos maduros.

- **Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF):** producido por fibroblastos, células endoteliales y monocitos en respuesta a estímulos específicos. Actúa sobre los precursores hematopoyéticos de los granulocitos y sobre los granulocitos maduros. La granulocitosis asociada a ciertas infecciones se debe a que el LPS de las paredes bacterianas es un potente inductor de la producción de esta citocina. Se han descrito otras funciones de este factor, como la estimulación de la fagocitosis y de la citotoxicidad mediada por anticuerpos.

- **Factor Estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF):** producido por monocitos y macrófagos maduros activados y está implicado en el desarrollo de las células progenitoras de los macrófagos.

- **Interleuquina 3 (IL-3):** producida mayoritariamente por los linfocitos T activados y también por mastocitos. Induce la proliferación y diferenciación de progenitores hematopoyéticos tempranos de todas las series sanguíneas, por lo que también es conocida como multi-CSF. Induce fundamentalmente la hematopoyesis en situaciones de estrés que requieren una respuesta rápida, siendo menos claro su papel en la hematopoyesis constitutiva.

- **Interleuquina 7 (IL-7):** producida por células estromales de la médula ósea. Promueve la maduración de progenitores pro- y pre-B hacia linfocitos B maduros en la médula ósea y de linfocitos T inmaduros en el timo fetal y adulto. También actúa como factor de crecimiento para linfocitos T y B.

▪ **Citocinas proinflamatorias e inmunosupresoras.**

Las citoquinas con actividad anti-inflamatoria e inmunosupresora inhiben el crecimiento celular o suprimen la secreción de otras citoquinas. Entre ellas se encuentran la IL-4, IL-13 e IL-10, que activan las acciones de los linfocitos B a la vez que inhiben las respuestas inflamatorias. La IL-13 e IL-4 están relacionadas con los linfocitos Th2, participando en los procesos alérgicos. La suplementación de embarazadas con ácidos grasos omega-3 se ha asociado a disminución de niveles de RNAm de IL-4 e IL-13 y descenso de células NK en sangre de cordón umbilical (123;126). También se incluye en este grupo el TGF- β que inhibe el crecimiento y la función de muchos tipos celulares, la síntesis de determinadas citoquinas y la actividad citotóxica natural y específica. Finalmente, los interferones tipo I (α y β), también se pueden considerar citoquinas supresoras debido a su capacidad antiproliferativa y a su efecto regulador de la producción de citoquinas proinflamatorias.

En el grupo de las citoquinas con actividad proinflamatoria se incluyen las producidas por los monocitos y macrófagos activados durante las respuestas inmunes innatas, aunque también pueden ser producidas por linfocitos activados (Th1 o citotóxicos), y otras células no pertenecientes al sistema inmune. Las principales citoquinas que participan en los acontecimientos celulares y moleculares asociados con los fenómenos inflamatorios son la IL-1, IL-6, el TNF- α y algunos miembros de la familia de las quimioquinas. Otra importante citoquina proinflamatoria es el IFN- γ , producido por linfocitos Th1 en las respuestas inmunes específicas y por células NK activadas.

En la figura 8 se muestra el balance entre las citoquinas proinflamatorias y anti-inflamatorias (118).

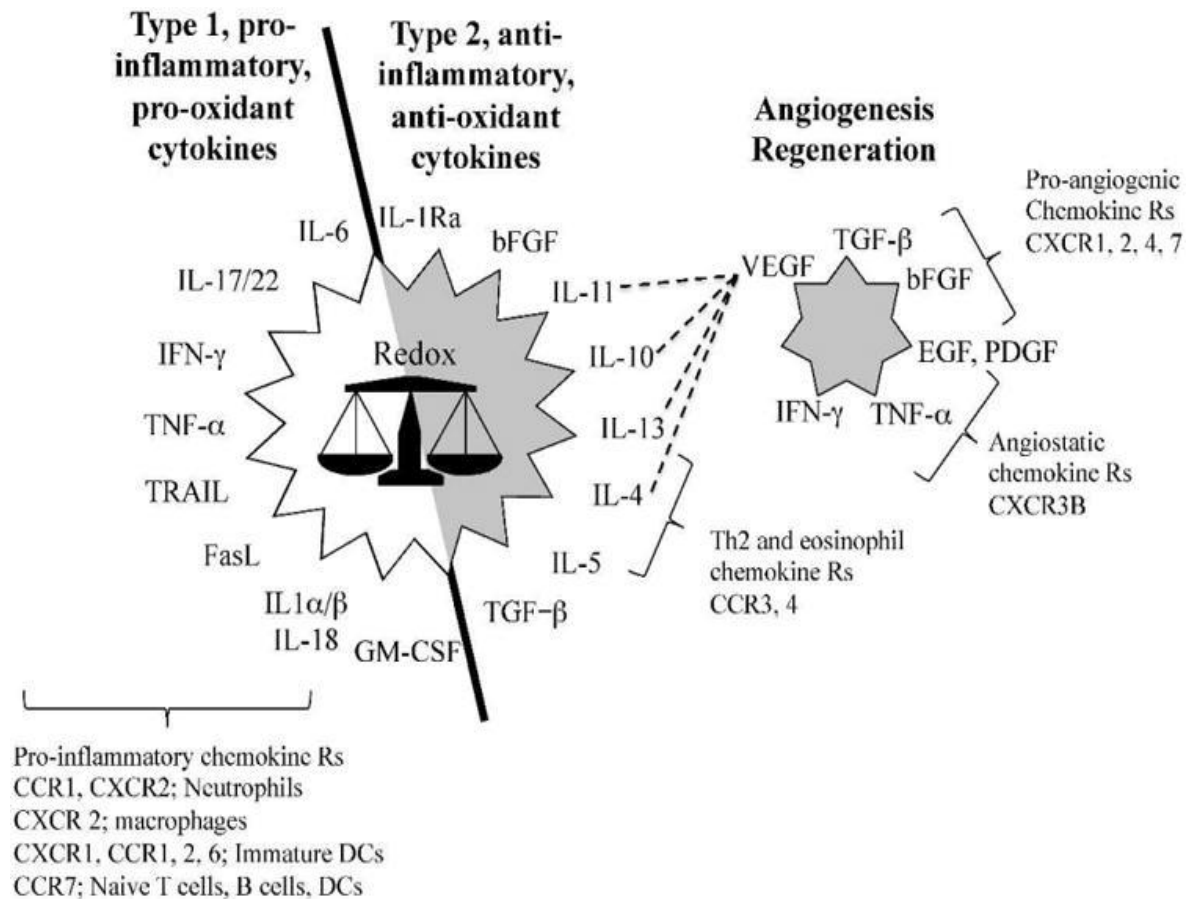


Figura 8. Balance entre las citoquinas proinflamatorias y anti-inflamatorias

1.2.2. Efecto de la suplementación de AGPI-Cl omega-3 en la inflamación.

En condiciones de enfermedad se ha visto que el aceite de pescado puede actuar como agente antiinflamatorio. E. A Milles y P.C Calder (127) concluyen en 2012, en una revisión sistemática de ensayos con suplementación de omega-3 en pacientes con Artritis Reumatoide los efectos antiinflamatorios de los mismos. Así, determinan que una cantidad suficientemente alta de ácidos grasos omega-3 disminuye la producción de

eicosanoides inflamatorios derivados del ácido araquidónico y promueve la producción de eicosanoides menos inflamatorios a partir de EPA. A esto hay que añadir la producción de resolvinas antiinflamatorias y mediadores relacionados directamente con EPA y DHA (127;128). La inflamación que ocurre en estas enfermedades también se debe a la hiperproliferación de células T y consecuentemente a un aumento de citoquinas proinflamatorias (28). Otras acciones antiinflamatorias de los AGPI-CL omega-3 incluyen el descenso de los presentadores de antígenos de la vía MHC tipo II, descenso de las células T reactivas y descenso de la producción de citoquinas Th1. Además, participan en la síntesis de una familia de mediadores lipídicos involucrados en la respuesta inflamatoria (53).

Se ha establecido bien el papel de estos mediadores lipídicos derivados de los ácidos grasos omega-3 en la respuesta inflamatoria. Los mediadores lipídicos clásicos incluyen a las prostaglandinas y leucotrienos, a los que hay que añadir dos nuevas clases de mediadores más recientes. La primera llamada “Specialized Pro-resolving Mediators” producidos a través de las vías de las ciclooxigenasas (COX) y lipooxigenasas (LOX). EPA produce las resolvinas de la serie-E mientras que el DHA produce las protectinas, resolvinas de la serie-D y las maresinas. Recientemente también se han descubierto moléculas derivadas de DPA, análogas a las derivadas del DHA (129). Las vías son complejas y aún no se conocen con exactitud. Un gran número de estudios ha demostrado que las resolvinas de la serie-E, D y las protectinas tienen efecto antiinflamatorio (128;130) e inmunomodulador (127). Estas últimas han demostrado tener un papel antiinflamatorio en cerebros de pacientes afectados de Alzheimer y participan también en la supervivencia celular y reparando los daños asociados a la edad (129). La resolvina E1, que es un mediador derivado de EPA, aumenta la producción de lágrimas y disminuye la inflamación del síndrome de ojo seco en un modelo llevado a cabo con ratones (131). Son varios los estudios en el campo de la Oftalmología que han demostrado efectos beneficios de la ingesta de DHA en el síndrome de ojo seco, mejorando las condiciones de la enfermedad y en la inflamación conjuntival postquirúrgica con reducción de la misma tras la administración de suplementos con DHA durante 3 meses (131).

La otra novedosa clase de mediadores son los llamados “Electrophilic fatty acid oxo-derivatives” (EFOX) sintetizados por la vía COX-2 y 5-LOX y que incluyen al 5-oxo-EPA, 7-oxo-DPA y 7-oxo-DHA derivados de EPA, DPA y DHA respectivamente. Estas moléculas han demostrado acciones antiinflamatorias como agonistas del factor de transcripción nuclear, receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ), activando la respuesta antioxidante dependiente de Nrf-2 e inhibiendo la producción de citoquinas (129).

Podemos decir que los AGPI-CL omega-3 actúan sobre la inflamación de un modo directo ya que reemplazan al ácido araquidónico como sustrato para la síntesis de eicosanoides, e indirectamente alterando la expresión de genes inflamatorios a través de la activación de factores de transcripción (117) entre otros mecanismos. Tanto el EPA como el DHA influyen sobre la función de muchas células actuando como agentes inmunosupresores y antiinflamatorios aunque algunos estudios indican que difieren en sus efectos y mecanismos de actuación (24;27;28;129;132). Las vías son complejas y queda mucho que descifrar. Probablemente, las propiedades activas del DHA incluyan además de los efectos sobre el desarrollo neuronal y su plasticidad, participación como mediadores en los procesos de señalización de los receptores de membrana, cambios en la fluidez de la membrana, formación de segundos mensajeros y mejora en la producción de mediadores antiinflamatorios, debido a la disponibilidad de DHA como sustrato (133-135). Hu Wang y colaboradores demostraron en su estudio con macrófagos in vitro, que el factor de transcripción Nrf2 juega un papel clave en los efectos antiinflamatorios del DHA y EPA. Sus resultados ponen en evidencia que el DHA, a través de la señalización dependiente de Nrf2, es capaz de inhibir mediadores proinflamatorios, como la óxido nítrico sintetasa y la COX-2, y citoquinas proinflamatorias como la IL-6, la IL-1 y el TNF- α (67). Otros estudios plantean que los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 son ligandos naturales del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ), un factor de transcripción que regula la expresión de genes que participan en la proliferación celular, inflamación y en el metabolismo de los ácidos grasos y lipoproteínas. La activación de los PPAR γ puede inhibir la señalización de NF- κ B y la expresión de genes

inflamatorios (124). A pesar de los datos disponibles, poco se sabe aún sobre los mecanismos celulares y moleculares por los cuales los AGPI-CL omega-3 ejercen un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades inflamatorias y las enfermedades inmunomediadas (136). Desvelar dichos mecanismos está aún por completar.

1.2.3. Inflamación, DHA y embarazo.

La inflamación se considera una de las principales causas de las complicaciones del embarazo, prematuridad y de morbilidad en el neonato (137-142). De hecho el embarazo se puede considerar un estado de inflamación sistémica leve y controlada. Las citoquinas TNF- α e IL-1 están implicadas fundamentalmente en los procesos inflamatorios asociados al embarazo y parto (137;139;140). No obstante, también se ha demostrado un aumento de biomarcadores inflamatorios como la IL-8, el factor de crecimiento de los hepatocitos y la proteína quimiotáctica de monocitos durante el embarazo. También aumentan de forma progresiva los biomarcadores vasculares como la selectina E, la molécula 1 de adhesión vascular, la molécula de adhesión vascular intercelular-1 (ICAM) y el activador-inhibidor 1 del plasminógeno (143). Otros estudios han sugerido que una respuesta anormal de las citoquinas y otras moléculas como la leptina pueden estar involucradas en la fisiopatología de complicaciones de la gestación como la preeclampsia. Se ha demostrado una relación entre el TNF- α , la IL-6, la IL-8, la IL-10 y la leptina manifestando que la alteración al alza de los niveles de estos marcadores podría usarse como marcador de disfunción proinflamatoria y antiinflamatoria y de disfunción endotelial en la preeclampsia (144).

En el embarazo también tienen lugar importantes cambios con impacto en las vías metabólicas de los lípidos y carbohidratos y las funciones vasculares. El tejido adiposo no solo actúa como almacén de energía durante la gestación sino que también es un tejido metabólicamente activo (143). Los adipocitos y su estroma son una fuente rica de citoquinas y mediadores inflamatorios como el TNF- α y adiponectina, que aumentan y disminuyen respectivamente, la resistencia a la insulina (145). El aumento

en la resistencia a la insulina y los cambios que se producen en el perfil lipídico de la madre durante el embarazo podrían jugar un papel importante en la disfunción endotelial (146). El papel que las adipoquinas, citoquinas y biomarcadores de la homeostasis vascular juegan en la regulación de los cambios metabólicos del embarazo está aún por completar.

Se ha demostrado que una ingesta alta de estos ácidos grasos disminuye la producción de eicosanoides, citoquinas, ROS y la expresión de moléculas de adhesión. Estudios realizados con cultivos celulares (67) han reportado que EPA y DHA pueden inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias, como el TNF- α , la IL-1 y la IL-6 y en estudios in vitro se ha demostrado que pueden disminuir también la expresión de células de adhesión molecular y recientemente también en células endoteliales de cordón umbilical. Estos efectos quedan respaldados por estudios similares de suplementación alimentaria en modelos animales y humanos. En un modelo murino de inflamación sistémica materna y posterior exposición de la crías a un ambiente de hiperoxia, la suplementación de las madres con DHA durante la gestación conllevaba una disminución de la respuesta inflamatoria y una mejora en el crecimiento pulmonar de las crías (147). Posteriormente en un modelo de exposición similar con mayor grado de inflamación, se demostró que la suplementación materna con DHA mejora el desarrollo y la función pulmonar, disminuye la respuesta inflamatoria, la expresión de enzimas de remodelación y reduce la fibrosis pulmonar (32). En humanos, algunos estudios han revelado descenso de los niveles de citoquinas, como medida de respuesta inflamatoria sistémica tras la suplementación durante 8 semanas con aceite de pescado (148) y durante el embarazo se ha demostrado que la ingesta de ácidos grasos de cadena larga omega-3 puede modular los niveles de citoquinas y la maduración de células T helper (Th) (136). Estudios comparativos en niños amamantados cuyas madres fueron suplementadas con EPA y DHA desde la semana 22 de gestación, demuestran que esta intervención dietética conlleva un descenso de los niveles de citoquinas Th1, como interferón gamma (IFN- γ) e IL-1 en plasma, y descenso de las citoquinas Th2, IL-14 e IL-13 en sangre de cordón umbilical (109). En la actualidad son pocos los estudios que

han investigado la relación de los ácidos grasos omega-3, la inflamación y la gestación y etapa perinatal.

JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

El interés terapéutico de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga se despierta a principios de la década de los 80 (149), a medida que los estudios epidemiológicos revelan que el consumo de grandes cantidades de pescado rico en omega-3 se asocia a menor incidencia de enfermedades inflamatorias (31). A esto se suman otros estudios que revelan que los ácidos grasos de cadena larga, especialmente el ácido docosahexaenoico (DHA), tienen también un papel vital en el desarrollo fetal (134;150;151).

El DHA y el ácido eicosapentaenoico (EPA) son dos ácidos grasos omega-3 nutricionalmente esenciales con la peculiaridad de que no son sintetizados en cantidades suficientes por el organismo y por eso deben obtenerse a través de la dieta (152). En etapas vulnerables como el embarazo y la lactancia se recomienda un alto consumo de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 (AGPI-CL ω -3) ya que los niveles de DHA materno descienden durante el embarazo (23) y continúan descendiendo si el periodo de lactancia es largo (153). También se ha observado que los niveles de DHA materno descienden aún más en los embarazos múltiples y que son más bajos en mujeres multíparas que en primíparas (154) y cuando el periodo entre embarazos es muy estrecho. El estatus de DHA en el feto depende exclusivamente de la transferencia placentaria y por ende de su administración a través de la dieta materna (155). Por tanto, la alimentación juega un papel relevante en estas dos etapas ya que el desarrollo óptimo del feto y del recién nacido necesita asegurar un aporte materno adecuado de DHA. Parece razonable entonces la importancia de un suplemento dietético que se ajuste a las necesidades de estas etapas.

La suplementación dietética con DHA ha demostrado que influye en la composición de ácidos grasos del organismo y fosfolípidos circulantes (156). Por eso, los ácidos grasos del plasma y de las membranas de eritrocitos han supuesto un índice útil para determinar el adecuado aporte de DHA de la dieta (157;158). En la mayoría de

estudios que han valorado cómo la ingesta dietética de ácidos grasos influye en la composición lipídica de los tejidos, se ha reportado que la ingesta de ácidos grasos omega-3 o su precursor el ácido linolénico puede variar la composición de EPA y DHA observando interacciones sobre todo con el ARA que disminuye tras la suplementación con aceite de pescado sin recogerse datos sobre otros ácidos grasos (88;90;91). Estudios en esta línea podrían determinar la ingesta óptima de DHA y tiempo necesario de suplementación para conseguir un estatus adecuado a las necesidades que conlleva el embarazo y la lactancia.

La mayoría de los estudios publicados sobre la suplementación con DHA y sus efectos, se ha centrado en el desarrollo visual y neuronal del recién nacido. Además de estos efectos ampliamente conocidos, existe evidencia de los beneficios que el DHA parece tener sobre la respuesta inflamatoria. Tanto EPA como DHA influyen sobre la función de muchas células del sistema inmune aunque algunos estudios indican que difieren en sus efectos y mecanismos de actuación. Los datos son inconsistentes y poco se sabe sobre el mecanismo por el cual los AGPI-CL omega-3 podrían tener un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades inflamatorias y las enfermedades inmunomediadas (136). Muchos datos son en relación a la producción de eicosanoides derivados de estos ácidos grasos y su acción sobre las propiedades de las membranas celulares en condiciones de enfermedad y pocos sobre la producción de citoquinas y sujetos sanos. Por tanto, resulta interesante establecer si existe relación entre la ingesta de DHA y la producción de citoquinas inflamatorias en etapas fisiológicas como el periodo perinatal y las primeras etapas del desarrollo del recién nacido, donde el organismo es más vulnerable y donde los ácidos grasos ya han demostrado amplios beneficios, aportando así algo más de conocimiento sobre los beneficios de una dieta rica en omega-3, sin necesidad de consumir suplementos farmacológicos.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal:

Analizar si la administración de un suplemento diario de un producto lácteo enriquecido con aceite de pescado (320 mg de DHA y 72 mg de EPA) a la mujer embarazada durante el último trimestre de gestación y el periodo de lactancia puede influir sobre la secreción de las siguientes citoquinas: GM-CSF, IL-2, IL4, IL-6, IL-10, INF- γ y TNF- α .

3.2 Objetivo secundario:

Analizar el patrón de ácidos grasos de la madre, de la leche materna y del recién nacido tras la suplementación diaria de la madre con un producto lácteo enriquecido con aceite de pescado (320 mg de DHA y 72 mg de EPA) durante el último trimestre de gestación y el periodo de lactancia.

**PACIENTES
Y
MÉTODOS**

4.1. PACIENTES

4.1.1. Pacientes y diseño del estudio

Ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos (Control y DHA) en el que participaron de forma voluntaria 137 mujeres gestantes controladas en los servicios de Ginecología del Hospital Materno-Infantil de Granada y del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil de Gran Canaria. La inclusión en el estudio se realizó entre Junio del año 2009 y Agosto del 2010.

El estudio contó con la aprobación del Comité Ético de ensayos clínicos con seres humanos de ambos hospitales. Está registrado en www.clinicaltrials.gov con el código de identificación NCT01947426.

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

4.1.2. Criterios de participación

La idoneidad para la participación de las voluntarias se consideró según los siguientes criterios:

4.1.2.1. Criterios de participación de las madres:

4.1.2.1.1. Criterios de inclusión:

- Aceptar libremente participar en el estudio y contar con el consentimiento informado firmado por la voluntaria (se adjunta en el apartado ANEXOS I).
- Mujer gestante con un embarazo de curso normal.
- Ausencia de enfermedad sistémica grave.
- Ausencia de enfermedad metabólica (diabetes e hipertensión gestacional).

- Índice de masa corporal al inicio de la gestación entre 18-30 Kg/m².

4.1.2.1.2. Criterios de exclusión:

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

4.1.2.2. Criterios de participación de los hijos:

4.1.2.2.1. Criterios de inclusión:

- Edad gestacional entre la semana 38-42.
- Nacimiento por parto eutócico.
- No alteraciones en monitor durante el parto.
- Peso al nacer adecuado a la edad gestacional.
- Apgar mayor o igual a 7 en el primer y quinto minuto de vida.
- Alimentación del recién nacido con lactancia materna.

4.1.2.2. Criterios de exclusión:

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

4.1.3. Diseño de los grupos e intervención.

La intervención dietética consistió en suplementar diariamente la dieta de las gestantes con una bebida láctea control ó una bebida láctea enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie omega-3 desde la semana 28 de gestación hasta el final de la lactancia materna. Un equipo de nutricionistas se encargó de elaborar dietas tipo Mediterránea, perfectamente equilibradas, adaptadas a las necesidades de las gestantes.

Las características de cada grupo se describen a continuación:

Grupo Control (n=70): dieta equilibrada tipo Mediterránea e ingesta de 400 ml/día (en dos tomas de 200 ml) de la bebida láctea control.

Grupo DHA (n=67): dieta equilibrada tipo Mediterránea e ingesta de 400 ml/día (en dos tomas de 200 ml) de la bebida láctea enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie omega-3 que supone un aporte de 320 mg de DHA y 72 mg de EPA diarios.

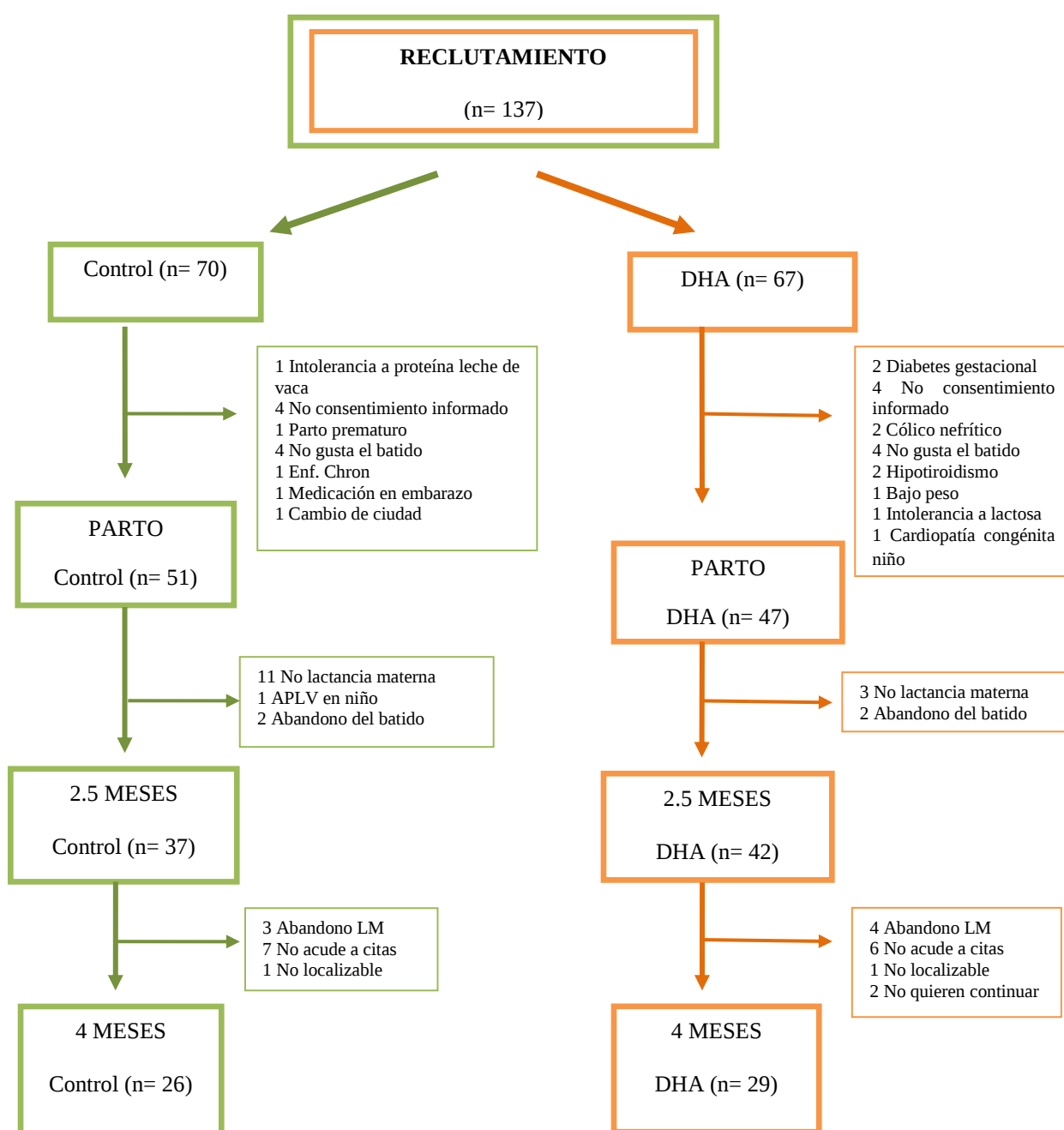


Figura 9. Diagrama de flujo donde se muestran las participantes en el estudio.

Se realizó un seguimiento nutricional de las gestantes con el objetivo de minimizar el factor de confusión que podía suponer la dieta. Comenzó con una encuesta nutricional de 110 ítems sobre frecuencia de consumo de alimentos (FFQ) (159;160)

que incluía preguntas específicas sobre el consumo de fuentes de DHA, tales como mariscos, atún, sardinas, salmón, trucha y otro tipo de pescados. Además de una encuesta alimentaria recordatorio de 96 horas e información sobre alimentación y hábitos sociales de cada gestante. Posteriormente, se diseñó una dieta basada en un sistema de menú para un mes con contenidos intercambiables dentro de cada grupo de nutrientes, lo que permitió mantener las preferencias de todas las gestantes y seguir las recomendaciones nutricionales, especialmente aquellas relacionadas con el consumo semanal de pescado. Todas las gestantes recibieron una hoja informativa que recogía los efectos beneficiosos del consumo de pescado y las recomendaciones de varias instituciones reconocidas de Europa y del resto del mundo (21;22). De esta manera se aseguraba que el consumo de pescado y derivados fuera el adecuado y así cubrir la ingesta recomendada de 300 mg/día de EPA+DHA (2-3 raciones de pescado por semana) para el buen desarrollo fetal (160).

Tras el primer mes de intervención, se realizó una segunda encuesta con un doble propósito: verificar el correcto seguimiento de la dieta y consumo de pescado y la correcta ingesta del producto lácteo. Después del parto, una tercera entrevista, con los mismos objetivos que la anterior, además de conocer cualquier incidencia. En esta etapa se intensificó la promoción de la lactancia materna durante al menos los 4 primeros meses de vida del niño, aunque lo deseable es que continuasen al menos hasta el sexto mes post-parto.

El análisis de la ingesta nutricional se realizó utilizando el software de Nutriber v.1.1.1.1 (Funiber, Barcelona, España).

Los productos lácteos control y enriquecido en DHA fueron cedidos por la empresa Lactalis Puleva (Granada, España). Actualmente no son productos comercializados y fueron producidos exclusivamente para el estudio. La composición de los mismos se muestra en la tabla 2. Se distribuyeron en envases blancos sin ningún etiquetado que reflejase el contenido. De esta forma, ni las gestantes ni los investigadores responsables del estudio conocían el grupo al que pertenecía cada

voluntaria. Igualmente, a cada gestante se le asignó una clave para garantizar la confidencialidad de sus valores analíticos.

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

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

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Muestras para el análisis

Se obtuvo muestras de sangre de la madre, de sus hijos y de leche materna en diferentes momentos del estudio.

4.2.1.1. Muestras maternas:

Las muestras de la madre se tomaron durante el embarazo en la consulta del Ginecólogo. En la sala de parto en el momento del alumbramiento y en la consulta del Pediatra durante el periodo de la lactancia. El esquema de recogida y las cantidades se resumen a continuación:

- 5 ml de sangre en el momento del reclutamiento (6º mes de embarazo) en la consulta del Ginecólogo que fueron designadas con el nombre **SM0**.
- 5 ml de sangre en el momento del parto en el paritorio, **SM1**.
- 5 ml durante el periodo de lactancia en la consulta del pediatra. A los dos meses y medio (2,5 m) tras el parto (**SM2**), y a los 4 meses post-parto (**SM3**), final de la intervención dietética.

4.2.1.2. Muestras de los hijos:

Las muestras de sangre de los hijos se tomaron en el momento del nacimiento en el mismo paritorio y posteriormente una segunda muestra a los dos meses y medio de vida en la consulta del Pediatra.

- 5 ml de sangre de vena de cordón umbilical (**SH0V**) en el momento del parto.
- 5 ml de sangre del niño a los 2,5 meses de vida (**SH1**)

4.2.1.3. Muestras de leche materna:

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

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

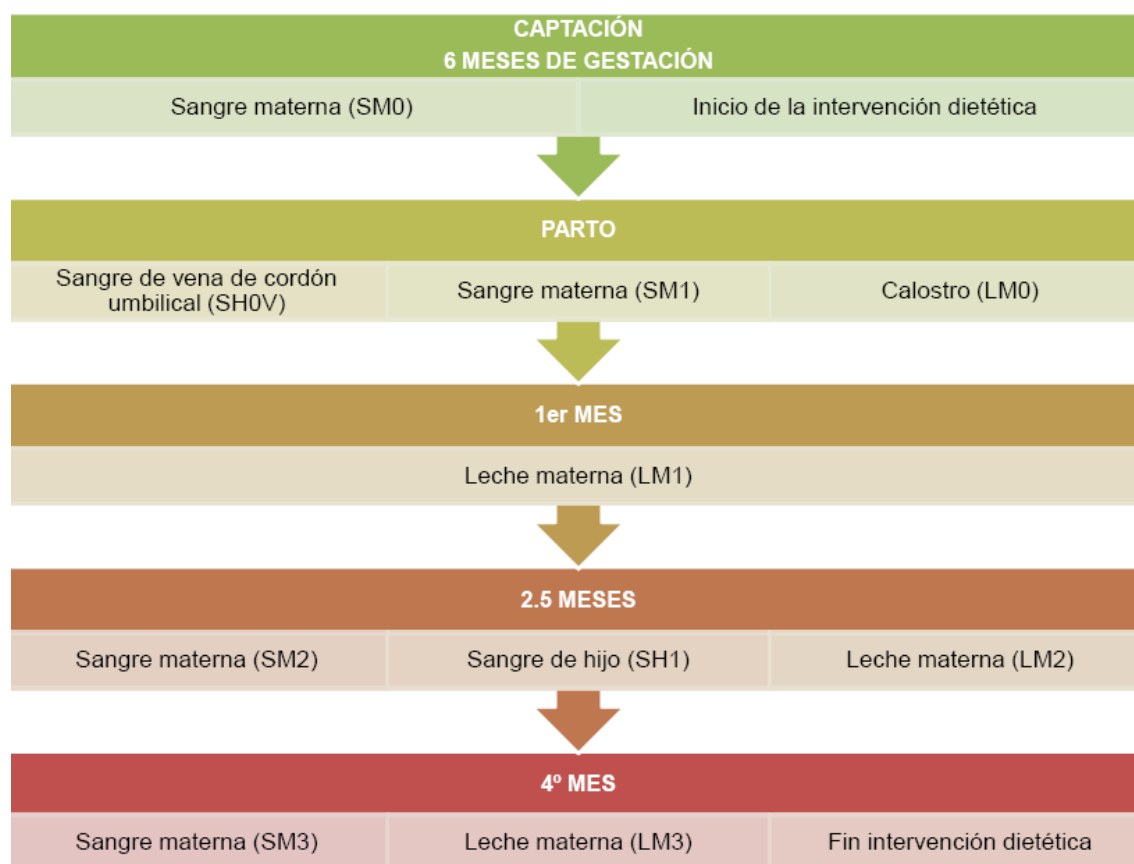


Figura 10. Esquema cronológico de recogida de las muestras.

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

De las muestras de sangre se aisló el plasma mediante proceso de centrifugación a 3000 r.p.m durante 15 minutos (3 eppendorf de 1,5ml). Se aislaron también las membranas de eritrocitos (2 eppendorf pequeños, de 0,5ml y 1 grande) y citosol (2 eppendorff de citosol pequeños) siguiendo el método descrito por Hanahan y Ekholm (161) ligeramente modificado.

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

4.2.2. Análisis de ácidos grasos en leche materna, plasma y eritrocitos.

4.2.2.1. Análisis de ácidos grasos en plasma

- Condiciones instrumentales.

El perfil de ácidos grasos del plasma materno y de hijo se determinó por cromatografía de gas líquido (GLC) según lo descrito por Lepage y Roy (162) mediante la cual se puede hacer en un solo paso la metilación y transesterificación de las muestras.

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

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

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

- Preparación de patrones y muestras.

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

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

Se realizó la determinación cualitativa de los lípidos de membrana, por lo que los resultados han sido expresados como porcentaje (%) del total de ácidos grasos detectados en el cromatograma (C12, C14, C15, C16, C16:1, C18, C18:1, C18:2, C18:3, C18:6, C20:4, C24:1, EPA (C20: 5 n-3), DPA (C22:5 n-3) y DHA). Cada ácido graso fue identificado mediante comparación con una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos (Sigma, St Louis, MO, Estados Unidos).

4.2.2.2. Análisis de ácidos grasos en membrana de eritrocito.

- Condiciones instrumentales.

El perfil de ácidos grasos de la membrana del eritrocito se determinó por cromatografía de gas líquido (GLC) según lo descrito por Lepage y Roy (162) mediante la cual se puede hacer en un solo paso la metilación y transesterificación de las muestras.

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

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

Fase Estacionaria	Supelco SP™ 2380 Fused Silica Capillary Column 60m.x0.25mm.x0.2µm.
Fase Móvil	Helio Purísimo
V_{INYECCIÓN} (µL)	1 µL
CG	
Horno	To = 160 °C (0.0 min) T1 = 177°C (20.0°C/min, 10 min) T2 = 177 °C (1.1°C/min, 1 min) T3 = 195 °C (1.5°C/min, 0 min) T4 = 230 °C (15°C/min, 7 min) Duración 33.18 min
Inyector	250 °C (33.18 min)
Flujo	1mL/min.
Gases para Quemar	Aire e Hidrógeno.
Modo de Medida	Áreas cuya unidad de medida son las cuentas.
Tª Detector.	260°C
Réplicas	1

- Preparación de patrones y muestras.

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

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

Muestras: En un tubo de ensayo pirex se vierten 500 μ L de eritrocitos y se añade 1mL de PBS 10x. Se somete a continua agitación. Posteriormente se centrifuga durante 10min a 6000 r.p.m. y se elimina la fracción hemoglobínica (sobrenadante) evitando arrastrar el pelet de las membranas de los eritrocitos. Se añaden 200 μ L de C:23 a una concentración de 0,083mg/mL. Se agita suavemente y se añaden 2 mL de disolución metanol-tolueno 2:1. Agitación en vortex durante 1 minuto a temperatura ambiente y a continuación se añaden 200 μ l de cloruro de acetilo. Es extremadamente importante, que mientras se esté adicionando dicho compuesto se mantenga la muestra en vigorosa agitación. Tras agitar con vortex durante 1 min a temperatura ambiente se gasea la muestra con nitrógeno o argón para evitar una oxidación de los ácidos grasos. A continuación se ponen dichas muestras en un bloque calefactor durante 1 hora a 100°C. Una vez sacadas de éste se refrigeran en un baño de hielo hasta perder la temperatura alcanzada anteriormente, y se vierten con especial cuidado 5mL de carbonato potásico al 6 %. A continuación se lleva a cabo una agitación rápida y se centrifuga a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. Se recoge con una pipeta pasteur el sobrenadante obtenido (tolueno) y se lleva a sequedad total con ayuda del speed vac. A continuación se resuspende el extracto seco obtenido en 50 μ L de tolueno. Se agita y se vierte al vial con inserto cromatográfico. Por último se inyecta 1 μ l en el cromatógrafo de gases con detector FID.

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

4.2.2.3. Análisis de ácidos grasos en leche materna.

El perfil de ácidos grasos de la leche materna se determinó por cromatografía de gas líquido (GLC) según lo descrito por Lepage y Roy (162) mediante la cual se puede hacer en un solo paso la metilación y transesterificación de las muestras.

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

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

Fase Estacionaria	Supelco SPTM 2380 Fused Silica Capillary Column 60m.x0.25mm.x0.2µm.
Fase Móvil	Helio Purísimo
V_{INYECCIÓN} (µL)	1 µL
CG	
Horno	To = 62 °C (0.5 min) T1 = 150°C (15.5°C/min, 5 min) T2 = 177 °C (1.1°C/min, 1.5 min) T3 = 195 °C (1.5°C/min, 0 min) T4 = 230 °C (15°C/min, 7 min) Duración 50.50 min
Inyector	250 °C (33.18 min)
Flujo	1mL/min.
Gases para Quemar	Aire e Hidrógeno.
Modo de Medida	Áreas
T^a Detector.	260°C
Réplicas	1

- Preparación de patrones y muestras.

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

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

Muestras: En un tubo de ensayo pirex se vierten 300 μ L de leche humana y se añaden 200 μ L de C:23 a una concentración de 0.1mg/mL. Se agita suavemente y se añaden 2 mL de disolución metanol-tolueno 4:1. Se vuelve a agitar en vortex durante 1 minuto a temperatura ambiente y a continuación se adicionan cuidadosamente y siempre en campana de absorción de gases y con medidas de protección ocular, los 200 μ L de cloruro de acetilo. Es extremadamente importante, que mientras se esté adicionando dicho compuesto se mantenga la muestra en vigorosa agitación. Tras agitar con vortex durante 1 min a temperatura ambiente se gasea la muestra con nitrógeno o argón para evitar una oxidación de los ácidos grasos. A continuación se ponen dichas muestras en un bloque calefactor durante 1 hora a 100°C. Una vez sacadas de éste se refrigeran en un baño de hielo hasta perder la temperatura alcanzada anteriormente, y se vierten con especial cuidado 5mL de carbonato potásico al 6 %. A continuación se lleva a cabo una agitación rápida y se centrifuga a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. Se recoge con una pipeta pasteur el sobrenadante obtenido (tolueno) y se lleva a sequedad total con ayuda del speed vac. A continuación se resuspende el extracto seco obtenido en 300 μ L de tolueno. Se agita y se vierte al vial con inserto cromatográfico. Por último se inyecta 1 μ L en el cromatógrafo de gases con detector FID.

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

4.2.3. Análisis de citoquinas en plasma.

Los niveles de citoquinas se midieron mediante el kit comercial de ELISA multiplex MILLIPLEX® Human Cytokine/Chemokine (MPXHCYTO-60K) y usando el Citómetro de placas Luminex 200, Luminex Corporation (Austin, Estados Unidos) y el software xPONENT (un software para la adquisición y análisis de datos con equipos Luminex). Este kit permite la cuantificación simultánea de las siguientes 42 citoquinas y quimioquinas humanas: EGF, Eotaxin, FGF-2, ligando Flt-3, Fractalkine, G-CSF, GM-CSF, GRO, IFN- α 2, IFN- γ , IL-1RA, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, sIL-2R α , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p40), IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17A, IP-10, 1-MCP, MCP-3, MDC, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-AA, PDGF-AB/BB, RANTES, sCD40L, TGF- α , TNF- α , TNF- β y VEGF. En nuestro estudio hemos analizado 7 de ellas: GM-CSF, IL-2, IL4, IL-6, IL-10, INF- γ y TNF- α .

Por su alto coste, no fue posible realizar el análisis de citoquinas en todas las muestras con las que contábamos. Se analizaron las muestras de plasma de 30 de las madres (15 correspondían al grupo suplementado y 15 al control) y de 46 niños (24 correspondían al grupo suplementado y 22 al grupo control).

4.2.3.1. Preparación de los controles de calidad.

Antes de su uso, hay que reconstituir el control de calidad 1 y 2 con 250 μ L de agua desionizada. Se invierten los frascos varias veces para mezclar. Se deja reposar durante 5-10 minutos y luego se transfieren los controles a tubos de microcentrífuga de polipropileno debidamente etiquetados.

4.2.3.2. Preparación del estándar de citoquina humana.

Es necesario reconstituir el estándar de citoquina humana con 250 μ L de agua desionizada para obtener una concentración estándar de 10000 pg/mL para todos los

analitos. Se mezcla bien y se deja reposar durante 5-10 minutos. Luego se transfiere el estándar a un tubo de microcentrífuga de polipropileno debidamente etiquetado. Esto se utilizará como la concentración estándar de 10000 pg/mL.

4.2.3.3. Preparación de los estándares de trabajo.

Se preparan los estándares realizando diluciones seriadas de un estándar suministrado con el kit resultando 8 estándares que se analizaron por duplicado. Como control negativo se utilizó diluyente del estándar. Se etiquetan cinco tubos de microcentrífuga de polipropileno, de 2000, 400, 80, 16 y 3,2 pg/mL. Añadimos 200 μ L de tampón en cada uno de ellos. A continuación se preparan diluciones seriadas añadiendo 50 μ L del estándar reconstituido de 10.000 pg/mL al tubo de 2000 pg/mL. Se mezcla bien y se transfieren 50 μ L al tubo de 400 pg/mL. Volver a mezclar bien y transferir 50 μ L de esta dilución al tubo de 80 pg/mL, mezclar bien y transferir 50 μ L del estándar de 80 pg/mL al tubo de 16 pg/mL. Finalmente volver a mezclar y transferir 50 μ L de éste al tubo de 3,2 pg/mL. El estándar de 0 pg/mL será tampón de ensayo.

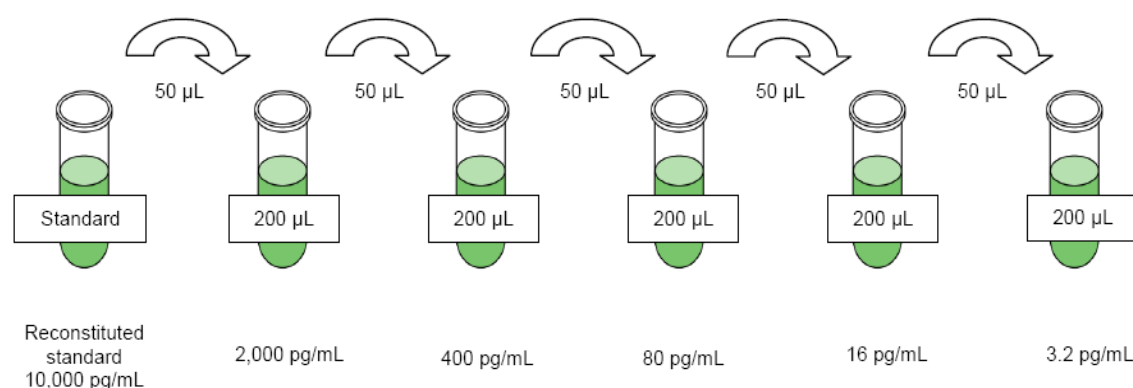


Figura 11. Esquema de las diluciones seriadas.

4.2.3.4. Procedimiento del inmunoensayo.

Se humedece la placa con la adición de 200 μ L de tampón de ensayo (L-AB) en cada pocillo. Se sella y se mezcla en un agitador de placa durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C). Luego se elimina el tampón mediante filtración por vacío. En la placa ya preparada, se adicionan, en primer lugar, las microesferas que llevan incorporado el anticuerpo dirigido frente a las diferentes citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento. Se realizan dos lavados de los micropocillos y seguidamente, se añaden los estándares, controles y muestras en el pocillo correspondiente y se incuba la placa a temperatura ambiente (20-25°C) en agitación durante 1 hora. Después de la incubación de las muestras, se retira el líquido por vacío y se realizan dos lavados con tampón (10X Wash Buffer. L-WB). A continuación, se añade el anticuerpo de detección (MXH1060-1) a cada pocillo y se incuba la placa a temperatura ambiente en agitación durante 30 minutos. Esto resulta en la formación de un sándwich de anticuerpos alrededor de la citoquina, quimioquina y factores de crecimiento diana. Tras 3 lavados, se adiciona la solución de estreptavidina-ficoeritrina (L-SAPE9) a cada pocillo y se incuba la placa a temperatura ambiente en agitación durante 30 minutos. La SAPE se une al anticuerpo de detección biotinilado en la superficie de la microesfera. Posteriormente, se realiza una serie de lavados antes de la detección. Los datos de la reacción se adquieren usando el sistema Luminex 200® (Austin, TX, EEUU) que es un instrumento basado en citometría de flujo que permite cuantificar la intensidad de las reacciones bioquímicas que tienen lugar en la superficie de las microesferas. Además, incluye un sistema informático de captura, procesamiento y transformación de la señal fluorescente en señal digital, permitiendo así el análisis de los resultados. Uno de los láseres emite una radiación con una longitud de onda capaz de excitar las moléculas de fluorocromo contenidas en las microesferas. La intensidad de la fluorescencia emitida por éstas permite diferenciar el analito que se mide en cada caso (fluorescencia interna de las microesferas). El otro láser excita las moléculas de ficoeritrina (PE) que se añaden al final del ensayo (fluorescencia en la superficie de las microesferas). El sistema óptico de detección del Luminex® permite revelar la intensidad de la reacción que tiene lugar en la superficie de las microesferas y el software del Luminex® (xPONENT) calcula automáticamente la concentración de cada

citoquina en la muestra problema, empleando una curva estándar derivada de una suspensión de citoquinas estándar, de concentración conocida y de la que se hacen diluciones seriadas.

Para una adecuada adquisición de los datos, las microesferas están teñidas con una combinación de dos colorantes fluorescentes en proporciones conocidas de manera que cada microesfera tiene asignado un número (región de la microesfera) del 1 al 100 según el ratio de los dos colorantes fluorescentes. Los valores del último estándar fueron considerados como límites de detección para cada mediador, tal y como recomienda el fabricante. Aquellos valores por debajo del nivel de detección se equipararon al nivel de detección. Los ajustes del equipo y condiciones se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 6. Ajustes del equipo Luminex®200, Luminex Corporation (Austin, EE.UU)

Events	50, per bead	
Sample	100 µL	
Gate Settings	8,000 to 15,000	
Reporter	Default (low PMT)	
Time Out	60 seconds	
Bead Set	Customizable 41-Plex Beads	
	GM-CSF	20
	IFN-γ	25
	IL-10	27
	IL-2	48
	IL-4	53
	IL-6	57
	TNF-α	75

4.2.4. Análisis estadístico

4.2.4.1. Características de las madres y somatometría.

Análisis univariados. En cada uno de los dos brazos de tratamiento, las variables categóricas se resumieron en frecuencias y porcentajes y las numéricas en medias y desviaciones estándar (SD) ó en medianas y rangos intercuartílicos (IQR) según se dieran o no los supuestos de normalidad. Los porcentajes se compararon con el test de la χ^2 , las medias con el t-test y las medianas con el test de Wilcoxon para datos independientes.

Curvas de crecimiento. Para el peso, talla y perímetro craneal, Los datos se analizaron de acuerdo con el siguiente modelo de efectos mixtos (163):

$$y_{i,mes,k} = \beta_0 + \beta_1 mes + \beta_2 mes^2 + \beta_3 mes^3 + \gamma_i + niño_k + e_{i,mes,k}$$

donde $y_{i,mes,k}$ representa a cada uno de los marcadores antropométricos para el niño k -ésimo del grupo de tratamiento i ($i = Control, DHA$) en cada uno de los meses de observación ($mes = 0, 1, 2.5, 4, 8$ y 12), γ_i corresponde al efecto de tratamiento i -ésimo ($\gamma_{control} = 0$), $niño_k$ es el efecto aleatorio correspondiente al k -ésimo niño y finalmente, $e_{i,mes,k}$ representa la variabilidad interna al niño.

4.2.4.2. Evolución de los ácidos grasos en madres (plasma, eritrocitos y leche materna).

Representaremos por $x_{i,j,k;l}$ la determinación en la del l -ésimo ácido graso ($l = 1, \dots, 15$) en la gestante k perteneciente al grupo i -ésimo ($i = Control, DHA$) en la fase j ($j = 0,1,2,3$). Los porcentajes de cada uno de ellos en relación con el total se obtuvo como:

$$y_{i,j,k;l} = 100 \times \frac{x_{i,j,k;l}}{\sum_{l=1}^{15} x_{i,j,k;l}}$$

Cada ácido graso se resumió según fase (0, 1, 2 y 3) y tratamiento (Control y DHA) en mediana y rango intercuartílicos (IQR). En lo que sigue, omitimos en la notación el índice correspondiente a cada uno de los ácidos grasos (l). En cada fase, las medianas de ambos tratamientos se compararon con el test de Wilcoxon para datos independientes.

En orden a realizar una comparación global entre las trayectorias de los ácidos grasos entre los grupos Control y DHA (evolución de los porcentajes de ácido graso) se consideró el siguiente modelo de análisis de efectos mixtos (163):

$$(M) \quad y_{i,j,k} = \theta + \alpha_j + \beta_{i,j} + b_k + e_{i,j,k} : i = \text{Control, DHA}; j = 0,1,2,3$$

donde α_j es el efecto de fase ($\alpha_0 = 0$), $\beta_{i,j}$ es el efecto de grupo (tratamiento) según fase ($\beta_{\text{Control},j} = \beta_{i,0} = 0^*$, para todo i, j), b_k es el efecto aleatorio correspondiente al k -ésimo sujeto mientras que $e_{i,j,k}$ son variables aleatorias independientes $N(0, \sigma_e)$ e independientes de b_k .

*Para la lactancia materna, no se impone que $\beta_{\text{DHA},0}=0$. La intervención con la suplementación de DHA se inicia desde el 6º mes de gestación, por lo que en las muestras de calostro (fase 0 para lactancia materna) se puede reflejar el efecto de la misma.

En orden a contrastar el efecto de tratamiento, consideramos el modelo reducido:

$$(M0) \quad y_{i,j,k} = \theta + \alpha_j + b_k + e_{i,j,k} : i = \text{Control, DHA}; j = 0,1,2,3$$

Ambos modelos se estimaron por el método de la máxima verosimilitud. El efecto de tratamiento se contrastó mediante el test de razón de verosimilitudes que compara los modelos M y M0.

4.2.4.3. Evolución de los ácidos grasos en niños (plasma y eritrocitos).

Para los niños, las determinaciones de los ácidos grasos sólo se realizaron en las fases 0 y 1 (0= nacimiento; 1= 2.5 meses de vida). Por tal motivo, en cada fase y para cada tratamiento, los porcentajes se resumieron en medianas y rangos intercuartílicos. Las comparaciones entre tratamientos se llevaron a efecto utilizando el test de Wilcoxon para datos independientes.

4.2.4.4. Evolución de las citoquinas en madres.

Para cada una de las citoquinas, representaremos por $citoquina_{i,j,k}$ su determinación en la gestante k perteneciente al grupo i -ésimo de tratamiento ($i = DHA, control$) en la fase j ($j = 0, 1, 2$). Las citoquinas se resumieron según fase (0, 1 y 2) y tratamiento ($DHA, control$) en medianas y rangos intercuartílicos (IQR). En orden a evaluar el efecto del DHA sobre las citoquinas se consideró el siguiente modelo de análisis de efectos mixtos (163):

$$(M) \quad citoquina_{i,j,k} = \theta + \phi_j + \tau_{i,j} + madre_k + e_{i,j,k} \quad : \quad i = DHA, control; \quad j = 0,1,2$$

donde ϕ_j es el efecto de fase ($\phi_0 = 0$), $\tau_{i,j}$ es el efecto de tratamiento según fase ($\tau_{control,j} = \tau_{i,0} = 0$, para todo i, j), $madre_k$ es el efecto aleatorio correspondiente a la k -ésima madre mientras que $e_{i,j,k}$ son variables aleatorias independientes $N(0, \sigma_e)$ e independientes de $madre_k$.

En orden a contrastar el efecto de tratamiento, consideramos el modelo reducido:

$$(M0) \quad citoquina_{i,j,k} = \theta + \phi_j + madre_k + e_{i,j,k} \quad : \quad i = DHA, control; \quad j = 0,1,2$$

Ambos modelos se estimaron por el método de la máxima verosimilitud. El efecto de tratamiento se contrastó mediante el test de razón de verosimilitudes que compara los modelos M y M0.

4.2.4.5. Evolución de las citoquinas en niño.

Las citoquinas en niños sólo se determinaron en las fases 0 y 1 (0= nacimiento; 1= 2.5 meses de vida). Por tal motivo, en cada fase y para cada tratamiento, los datos se resumieron en medianas y rangos intercuartílicos. Las comparaciones entre tratamientos se llevaron a efecto utilizando el test de Wilcoxon para datos independientes.

4.2.4.6. Asociación del DHA con las citoquinas.

Las asociaciones entre el DHA y las diferentes citoquinas se llevaron a efecto mediante el coeficiente de correlación de Spearman.

En todos los análisis, un contraste de hipótesis se consideró estadísticamente significativo cuando los correspondientes p-valores fueron inferiores a .05.

Todos los análisis de datos se llevaron a efecto utilizando el paquete estadístico R.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Somatometría de las madres e hijos.

Analizamos las características antropométricas de las madres participantes en el estudio, como se muestran en la tabla 7. No encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad, peso, talla, tensión arterial y parámetros bioquímicos tales como perfil lipídico y glucemia. Lo que demuestra la homogeneidad basal entre grupos.

Tampoco, encontramos diferencias en el curso del embarazo y parto, sin diferencias en la edad gestacional y la puntuación del Apgar en el recién nacido.

La somatometría de los hijos tampoco muestra diferencias, siendo el peso, la talla y el perímetro craneal similar en ambos grupos como podemos ver en la tabla 8. La evolución de las características antropométricas en los niños tampoco fue diferente a lo largo del estudio, como se refleja en la figura 12. En el seguimiento realizado a lo largo del primer año de vida de los niños no detectamos diferencias significativas en cuanto a las variaciones de peso, talla y perímetro craneal entre grupos, siendo el crecimiento lineal y similar en ambos.

Tabla 7. Características de las madres e hijos

	Control (N = 70)	DHA (N = 67)	p
Edad, años	30.3 ± 4.9	30.6 ± 5.4	.765
Peso, kg (6 meses)	72.1 ± 13.2	70.9 ± 11.0	.569
Talla, cm	163 ± 6.4	163 ± 6.4	.743
IMC, Kg/m ² (6 meses)	27.2 ± 5.0	26.5 ± 3.7	.406
Hijos: varones / mujeres, %	58.9 / 41.1	52.8 / 47.2	.522
Tensión arterial sistólica, mmHg	110 ± 13	107 ± 9	.169
Tensión arterial diastólica, mmHg	65.8 ± 8.3	64.3 ± 6.8	.273
Colesterol sérico total, mg/dL	257 ± 39	253 ± 41	.638
Triglicéridos, md/dL	152 (124 ; 195)	156 (124 ; 187)	.875
Glucemia, mg/dL	97 (78 ; 112)	90 (77 ; 126)	.927
Hemoglobina, g/dL	12 (11 ; 12)	12 (11 ; 12)	.529
Hematocrito	35 (32 ; 36)	34 (33 ; 36)	.849
Semana del parto	40 (39 ; 41)	39 (38 ; 40)	.542
Apgar 1, %			
≤ 8	27.1	17.0	.237
9	72.9	83.0	
Apgar 5, %			
≤ 8	10.4	6.4	.706
9	75.0	74.5	
10	14.6	19.1	

Los datos son medias ± SD, medianas (IQR) y porcentajes

Tabla 8. Medidas antropométricas de los hijos

	Fase	Control (N = 56)	DHA (N = 53)	P
Peso, Kg	0	3.15 ± 0.49	3.23 ± 0.53	.390
	1	4.15 ± 0.63	4.27 ± 0.74	.411
Talla, cm	0	50.13 ± 2.87	50.12 ± 2.38	.978
	1	54.26 ± 2.52	54.56 ± 2.80	.578
Perímetro cefálico, cm	0	34.20 ± 1.36	33.85 ± 1.55	.285
	1	37.27 ± 1.31	37.11 ± 1.66	.601

Los datos son medias (±SD)

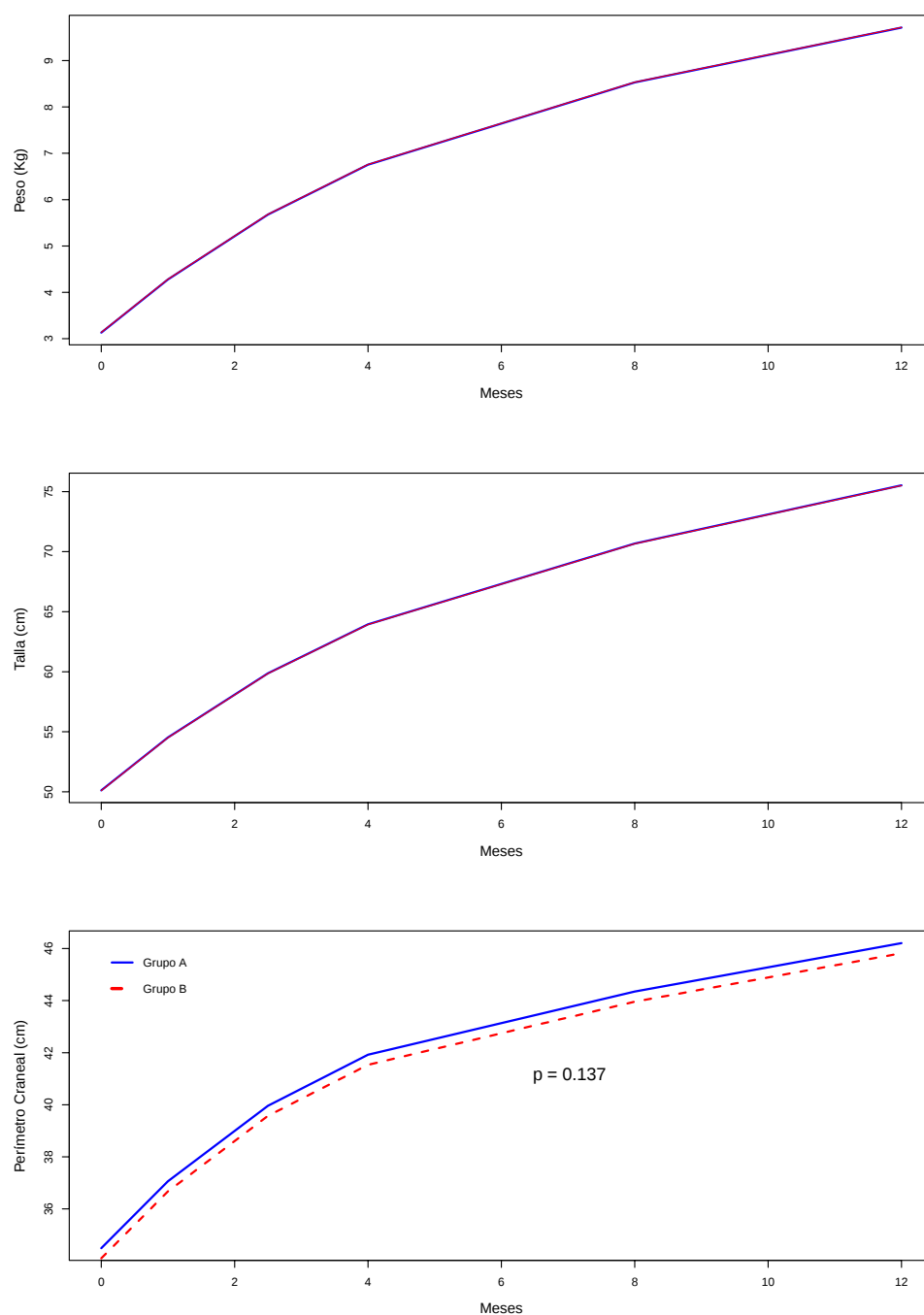


Figura 12. Evolución de los valores esperados de peso, talla y perímetro craneal en el primer año de vida.

Control —; Suplementado - -

5.2. Determinación de la composición de ácidos grasos en plasma materno.

La evolución de los ácidos grasos en plasma materno a lo largo del tiempo de estudio se muestra en la figura 13 y los datos para cada ácido graso, fase y grupo se resumen en la tabla 9.

En el momento basal (reclutamiento) no se encuentran diferencias significativas entre grupos para ninguno de los ácidos grasos analizados en plasma materno, siendo sus niveles similares en ambos grupos lo que manifiesta la homogeneidad entre ellos.

Los ácidos grasos saturados aumentan en ambos grupos en el momento del parto, no detectando diferencias significativas, salvo para el ácido palmitoleico, cuyo aumento fue mayor en el grupo control. En general, en ambos grupos las concentraciones de los ácidos grasos saturados tienden a aumentar hasta el momento del parto disminuyendo de forma progresiva posteriormente. Sin embargo, los ácidos grasos insaturados parecen llevar una trayectoria inversa. Disminuyen en el momento del parto con tendencia a aumentar en los meses posteriores. No obstante, no se encuentran diferencias significativas entre grupos para esta fase.

Destaca que las concentraciones del ácido nervónico, el EPA, el DPA y el DHA son mayores, aunque no estadísticamente significativas, en el grupo suplementado en el momento del parto. A los 2 meses y medio del mismo, este aumento se hace más evidente encontrando diferencias estadísticamente significativas entre grupos para los ácidos EPA ($p < .001$) y DHA ($p < .001$). También cabe señalar que el ácido graso gamma linolénico aumenta de forma significativa ($p = .004$) en este periodo en el grupo control respecto al suplementado.

A los 4 meses post-parto encontramos nuevamente mayor concentración de estos ácidos grasos, EPA ($p .001$) y DHA ($p .0042$), en el grupo suplementado. El resto de ácidos grasos no muestran diferencias significativas entre ambos grupos.

Tabla 9a. Composición de los ácidos grasos en plasma materno (Resultados expresados %)

Ácido	Fase	Control	DHA	P	P global
Ácido Láurico C12:0	0	0 (0; 0)	0 (0 ; 0)	1	.776
	1	0 (0; 0)	0 (0; 0)	.357	
	2	0 (0; 0)	0 (0; 0)	.994	
	3	0 (0; 0)	0 (0; 0)	.61	
Ácido Mirístico C14:0	0	0.56 (0.413; 0.768)	0.509 (0.382; 0.71)	1	.378
	1	0.814 (0.607; 1.115)	0.793 (0.333; 1.035)	.228	
	2	0.75 (0.536; 0.93)	0.628 (0.478; 0.764)	.172	
	3	0.56 (0.431; 0.88)	0.554 (0.425; 0.825)	.761	
Ácido Pentadecílico C15:0	0	0.107 (0.083; 0.149)	0.114 (0.09; 0.148)	1	.201
	1	0.144 (0.103; 0.195)	0.146 (0.099; 0.188)	.034	
	2	0.146 (0.083; 0.185)	0.13 (0.101; 0.185)	.919	
	3	0.061 (0; 0.158)	0.081 (0; 0.173)	.789	
Ácido Palmítico C16:0	0	17.906 (16.282; 23.901)	17.824 (15.651; 23.861)	1	.159
	1	25.818 (22.672; 29.136)	26.062 (19.219; 29.076)	.049	
	2	21.913 (16.758; 23.674)	19.133 (16.004; 22.468)	.177	
	3	19.819 (15.073; 23.981)	17.837 (15.412; 23.074)	.93	
Ácido Palmitoleico C16:1n-7	0	1.054 (0.828; 1.464)	0.906 (0.685; 1.226)	1	.023
	1	1.668 (1.222; 2.064) ^a	1.545 (1.081; 2.409) ^b	.003	
	2	1.331 (1.112; 1.947)	1.107 (0.888; 1.401)	.437	
	3	1.185 (0.841; 1.655)	0.941 (0.695; 1.265)	.641	
Ácido Esteárico C18:0	0	6.839 (6.531; 7.354)	7.125 (6.483; 7.592)	1	.208
	1	6.554 (5.796; 7.157)	6.121 (5.71; 6.788)	.163	
	2	8.545 (8.078; 8.864)	8.313 (7.717; 8.984)	.718	
	3	8.54 (7.819; 9.007)	8.497(8.103; 9.061)	.129	
Ácido Oléico C18:1n-9	0	21.91 (20.29; 24.652)	23.109 (20.19; 25.367)	1	.846
	1	25.062 (22.42; 26.493)	24.382 (22.84; 26.099)	.415	
	2	21.426 (19.372; 22.752)	20.736 (18.876; 22.597)	.668	
	3	20.711 (19.789; 23.527)	21.427 (19.401; 23.312)	.984	
Ácido Linoleico (LA) C18:2n-6	0	31.654 (29.39; 34.319)	31.273 (28.379; 34.632)	1	.331
	1	27.683 (25.012; 29.863)	26.505 (24.902; 30.429)	.747	
	2	31.496 (29.372; 33.903)	32.701 (30.438; 34.388)	.097	
	3	32.366 (29.169; 34.898)	30.703 (29.319; 32.403)	.792	

Los datos son medianas (IQR: p25; p75). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

Tabla 9b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en plasma materno.

Ácido	Fase	Control	DHA	P	P global
Ácido α linolénico (ALA) C18:3n-3	0	0.368 (0.297; 0.462)	0.36 (0.294 ; 0.445)	1	.021
	1	0.33 (0.237; 0.413) ^a	0.319 (0.239; 0.376) ^b	.002	
	2	0.31 (0.258; 0.38)	0.293 (0.244; 0.34)	.972	
	3	0.29 (0.203; 0.387)	0.305 (0.23; 0.365)	.918	
Á.gamma-linolénico (GLA) C18:3n-6	0	0.25 (0.207; 0.319)	0.223 (0.171; 0.327)	1	.022
	1	0.213 (0.165; 0.265)	0.214 (0.125; 0.247)	.802	
	2	0.69 (0.547; 0.841) ^a	0.51 (0.382; 0.687) ^b	.004	
	3	0.558 (0.37; 0.642)	0.436 (0.349; 0.509)	.234	
Ácido Araquidónico (ARA) C20:4n-6	0	9.155 (7.658; 11.12)	9.045 (7.596; 10.853)	1	.291
	1	6.777 (5.667; 8.524)	6.274 (4.76; 8.164)	.697	
	2	8.743 (7.57; 10.378)	8.019 (6.797; 9.223)	.053	
	3	8.974 (7.87; 11.939)	9.053 (6.919; 10.014)	.666	
Ácido Nervónico C24:1n-9	0	2.363 (1.652; 3.066)	2.554(1.883; 3.186)	1	.785
	1	1.398 (1.083; 1.781)	1.57 (1.304; 1.843)	.335	
	2	1.441 (1.193; 2.422)	1.699 (1.341; 2.652)	.787	
	3	1.987 (1.44; 3.483)	1.966 (1.348; 3.191)	.811	
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	0	0.364 (0.252; 0.497)	0.342 (0.269; 0.513)	1	<.001
	1	0.240 (0.171; 0.549)	0.351 (0.266 ; 0.45)	.667	
	2	0.75 (0.532; 1.05) ^a	1.137 (0.881; 1.671) ^b	<.001	
	3	0.595 (0.48; 1.03) ^a	0.948 (0.514; 1.444) ^b	.001	
Ácido Docosapentaenoico (DPA) 22:5n-3	0	0.418 (0.26; 0.66)	0.414 (0.294; 0.687)	1	.394
	1	0.336 (0.228; 0.536)	0.342 (0.235; 0.507)	.697	
	2	0.36 (0.183; 0.709)	0.625 (0.395; 0.726)	.303	
	3	0.56 (0.36; 0.659)	0.495 (0.433; 0.709)	.194	
Ácido docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	0	3.84 (2.68; 5.179)	4.026 (2.927; 4.971)	1	<.001
	1	2.826 (2.009; 3.824)	3.221 (2.475; 3.984)	.237	
	2	2.017 (1.525; 3.147) ^a	3.389 (2.627; 4.922) ^b	<.001	
	3	2.368 (1.656; 3.806) ^a	3.313 (2.547; 5.134) ^b	.0042	

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

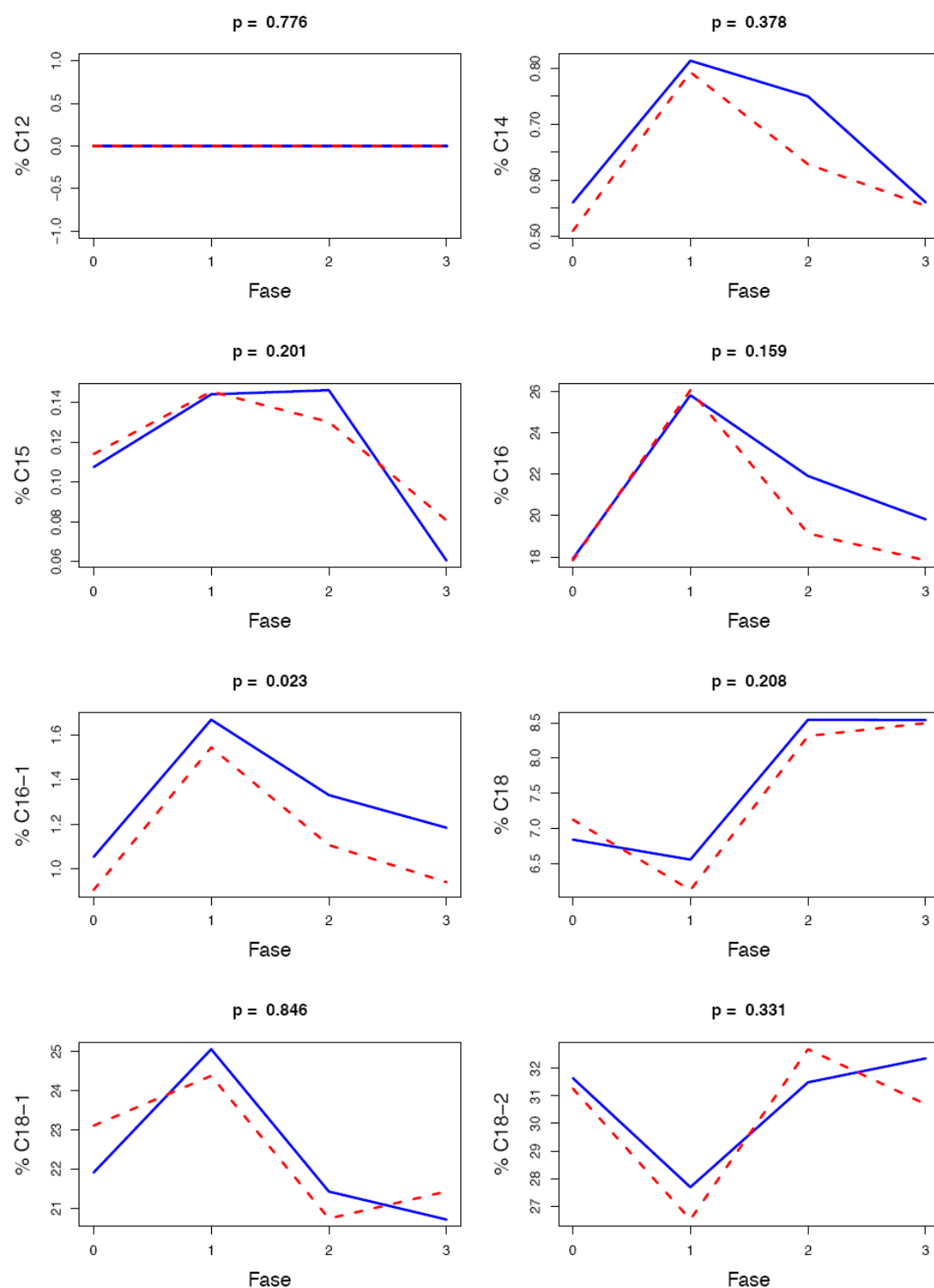


Figura 13a. Evolución de las concentraciones de los ácidos grasos en plasma materno.

Control —; Suplementado - -

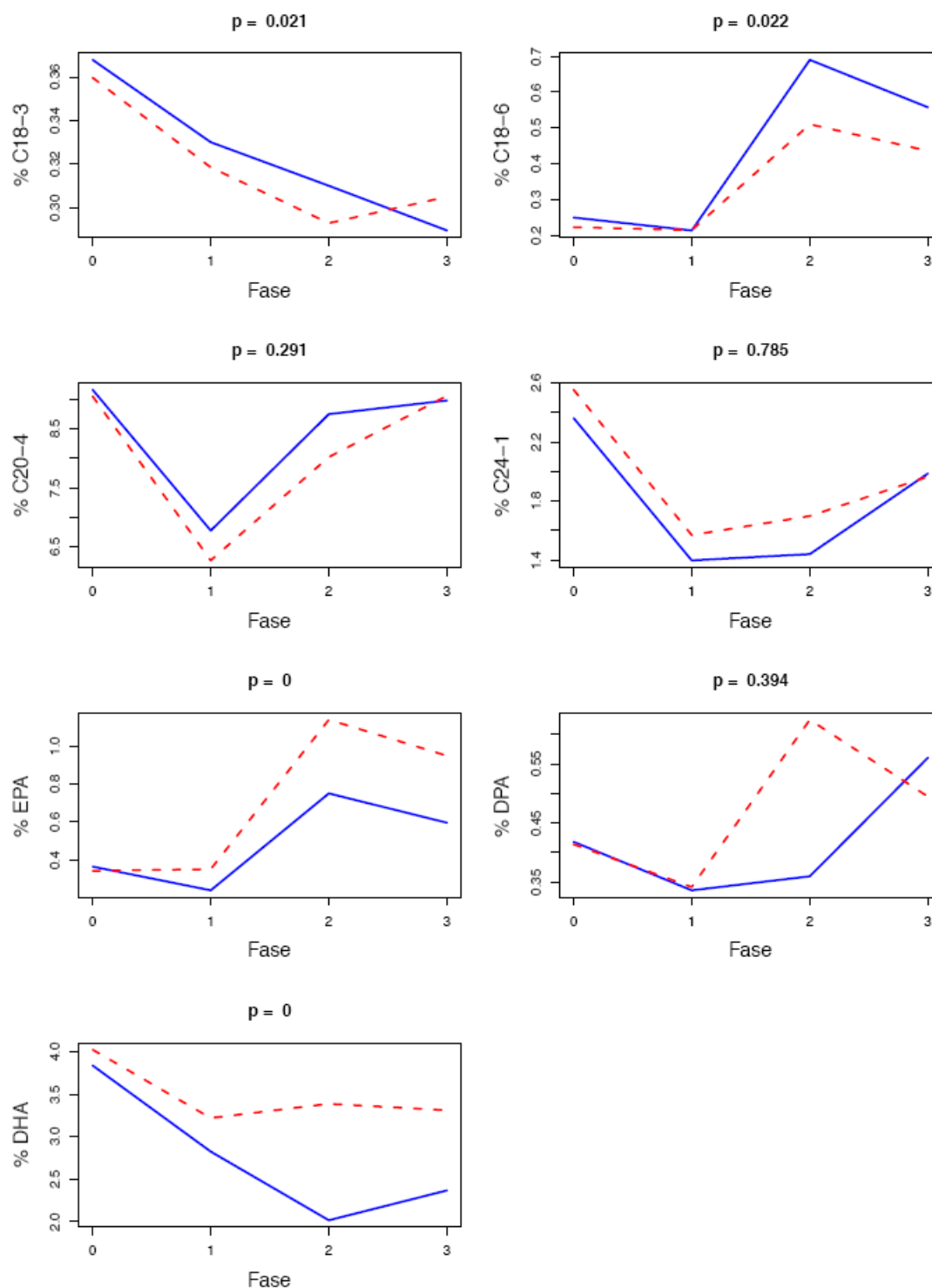


Figura 13b. Continuación. Evolución de las concentraciones de los ácidos grasos en plasma materno

Control —; Suplementado - -

5.3. Determinación de la composición de ácidos grasos en membrana de eritrocitos materno.

La evolución de los ácidos grasos en la membrana de los eritrocitos materno durante las fases del estudio se muestra en la figura 14a y 14b.

No se encuentran diferencias entre grupos en el patrón de ácidos grasos de la membrana de los eritrocitos en el momento del reclutamiento, como es de esperar, así como tampoco en el momento del parto. Cabe destacar en esta última fase, el descenso observado en la concentración de la mayoría de los ácidos grasos analizados. A pesar de este descenso las concentraciones de EPA y DHA en esta etapa son significativamente mayores en el grupo suplementado, siendo su disminución menor que la que sufren las madres del grupo control.

A los 2,5 y 4 meses post-parto, las concentraciones de DHA registradas en el grupo suplementado son significativamente mayores que en el grupo control. Por otro parte, se advierte un descenso de los niveles de ácido araquidónico (ARA) en el grupo DHA aunque no con significación estadística. También la concentración de ácido láurico es mayor en el grupo control a los 2,5 meses tras el parto siendo significativa la diferencia entre grupos. Por su parte, las concentraciones de ácido nervónico aunque son similares en ambos grupos, muestran un discreto aumento en el grupo DHA, sobre todo a los 4 meses post-parto aunque no de forma estadísticamente significativa ($p=0.091$). Para el resto de ácidos grasos no encontramos diferencias entre grupos.

Los resultados de las concentraciones analizadas en porcentaje para cada ácido graso según fase y grupo se resumen en la tabla 10.

Tabla 10a. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocito materno.

Ácido	Fase	Control	DHA	p	p global
Ácido Láurico C12:0	0	0.355 (0; 0.477)	0 (0 ; 0.438)	1	.049
	1	0 (0; 0)	0 (0; 0.02)	.389	
	2	0.47 (0.266; 1.007) ^a	0.344 (0.24; 0.651) ^b	.008	
	3	0 (0; 0)	0(0; 0.014)	.953	
Ácido Mirístico C14:0	0	10.963 (9.191; 12.314)	11.135 (10.077; 12.063)	1	.969
	1	0.637 (0.556; 0.768)	0.582 (0.494; 0.736)	.965	
	2	0.768 (0.518; 1.842)	0.705 (0.543; 1.397)	.62	
	3	0.352 (0.261; 0.493)	0.325 (0.274; 0.441)	.985	
Ácido Pentadecílico C15:0	0	0 (0; 0)	0 (0; 0)	1	.681
	1	0.182 (0.126; 0.223)	0.167 (0; 0.212)	.251	
	2	0 (0; 0)	0 (0; 0)	.83	
	3	0.089 (0; 0.121)	0.098 (0; 0.124)	.709	
Ácido Palmítico C16:0	0	14.422 (13.556; 15.711)	14.416 (13.311; 15.299)	1	.218
	1	33.524 (31.254; 38.192)	32.769 (28.666; 36.38)	.141	
	2	26.422 (25.712; 26.944)	26.055 (24.875; 26.387)	.151	
	3	20.617 (19.492; 22.066)	20.599 (19.193; 24.033)	.627	
Ácido Palmitoleico C16:1n-7	0	13.123 (12.151; 14.225)	12.807 (11.6; 14.015)	1	.659
	1	0.601 (0.383; 0.814)	0.435 (0.199; 0.568)	.866	
	2	0.083 (0.066; 0.112)	0.068 (0.055; 0.083)	.21	
	3	0.219 (0.062; 0.417)	0.247 (0.081; 0.329)	.992	
Ácido Esteárico C18:0	0	7.963 (6.576; 8.757)	7.712 (6.815; 8.399)	1	.272
	1	18.508 (17.37; 20.785)	17.459 (16.133; 20.12)	.199	
	2	18.487 (17.619; 19.084)	18.186 (17.211; 19.382)	.484	
	3	18.442 (17.301; 18.915)	18.365 (17.632; 19.083)	.183	
Ácido Oléico C18:1n-9	0	14.379 (13.422; 15.23)	14.416 (13.311; 15.299)	1	.312
	1	18.406 (16.251; 19.275)	17.714 (16.7; 19.491)	.113	
	2	15.056 (14.045; 16.427)	14.837 (13.752; 16.799)	.941	
	3	16.112 (15.163; 18.035)	17.435 (16.254; 18.33)	.257	
Ácido Linoleico (LA) C18:2n-6	0	11.225 (9.633; 12.57)	11.368 (10.474; 12.303)	1	.075
	1	9.201 (6.501; 11.969)	10.39 (8.528; 11.419)	.541	
	2	12.591 (11.549; 13.71) ^a	13.009 (12.495; 15.267) ^b	.013	
	3	14.287 (11.884; 15.672)	13.363 (12.55; 14.313)	.587	

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

Tabla 10b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocito materno.

Ácido	Fase	Control	DHA	p	p global
Ácido α linolénico (ALA) C18:3n-3	0	0 (0; 0.033)	0 (0 ; 0.085)	1	.446
	1	0 (0; 0.065)	0.027 (0; 0.1)	.82	
	2	0.065 (0.046; 0.087)	0.066 (0.052; 0.093)	.99	
	3	0.068 (0; 0.111)	0.076 (0; 0.102)	.112	
Á.gamma-linolénico (GLA) C18:3n-6	0	0.223 (0; 0.473)	0 (0; 0.43)	1	.885
	1	0 (0; 0)	0 (0; 0)	.699	
	2	0 (0; 0.121)	0.092 (0; 0.139)	.476	
	3	0.123 (0.068; 0.156)	0.13 (0.068; 0.162)	.693	
Ácido Araquidónico (ARA) C20:4n-6	0	13.202 (12.426; 14.46)	13.021 (11.837; 14.326)	1	.532
	1	7.835 (4.104; 11.408)	7.997 (4.882; 11.626)	.93	
	2	14.376 (13.092; 15.389)	13.651 (12.308; 14.114)	.601	
	3	16.323 (14.939; 17.523)	15.039 (14.058; 15.982)	.155	
Ácido Nervónico C24:1n-9	0	7.792 (6.228; 8.498)	7.511(6.071; 8.304)	1	.289
	1	6.763 (4.979; 7.608)	6.71 (6.033; 7.913)	.37	
	2	4.123 (3.918; 4.91)	4.222 (3.905; 4.627)	.754	
	3	4.75 (4.183; 5.758)	5.339 (4.874; 6.086)	.091	
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	0	0.51 (0.315; 1.059)	0.463 (0.214; 1.068)	1	.468
	1	0.155 (0; 0.346) ^a	0.297 (0.097 ; 0.52) ^b	.039	
	2	0.438 (0.282; 0.62)	0.731 (0.55; 1.175)	.178	
	3	0.531 (0.361; 0.694)	0.81 (0.464; 1.001)	.95	
Ácido Docosapentaenoico (DPA) 22:5n-3	0	1.201 (1.009; 1.427)	1.222 (1.053; 1.53)	1	.425
	1	0.473 (0.223; 0.747)	0.567 (0.32; 1.234)	.22	
	2	1.27 (1.153; 1.448)	1.597 (1.297; 1.695)	.385	
	3	1.332 (1.083; 1.787)	1.663 (1.501; 1.935)	.485	
Ácido docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	0	4.905 (4.227; 5.373)	4.77 (4.373; 5.748)	1	.004
	1	2.004 (1.057; 4.052)	3.111 (1.642; 5.581)	.058	
	2	4.091 (3.542; 4.711) ^a	5.343 (4.343; 5.798) ^b	.01	
	3	3.733 (3.267; 5.002) ^a	5.313 (4.318; 5.871) ^b	.007	

Los datos son medianas (IQR).Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

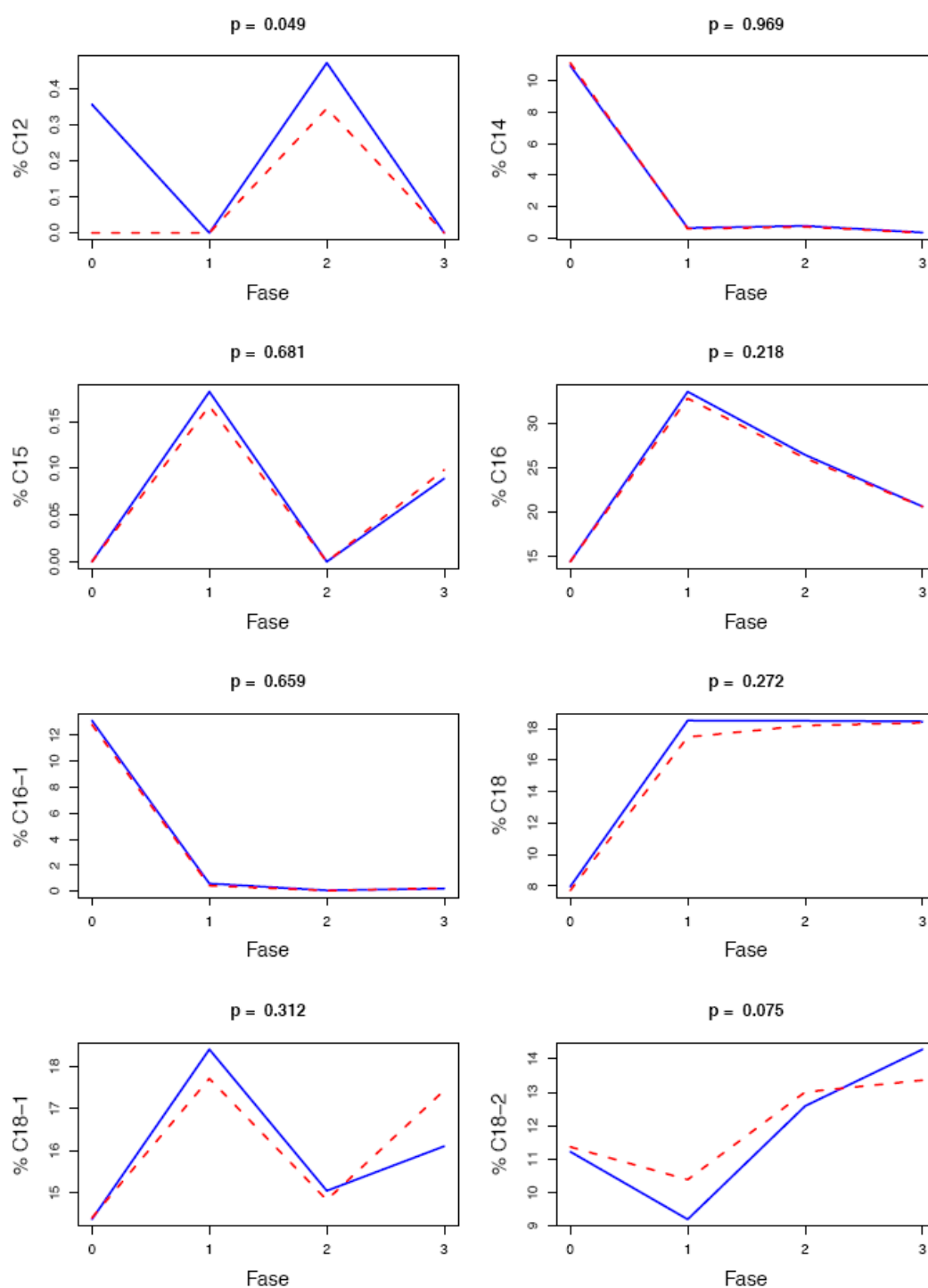


Figura 14a. Evolución de los ácidos grasos en membrana de eritrocito materno

Control —; Suplementado - -

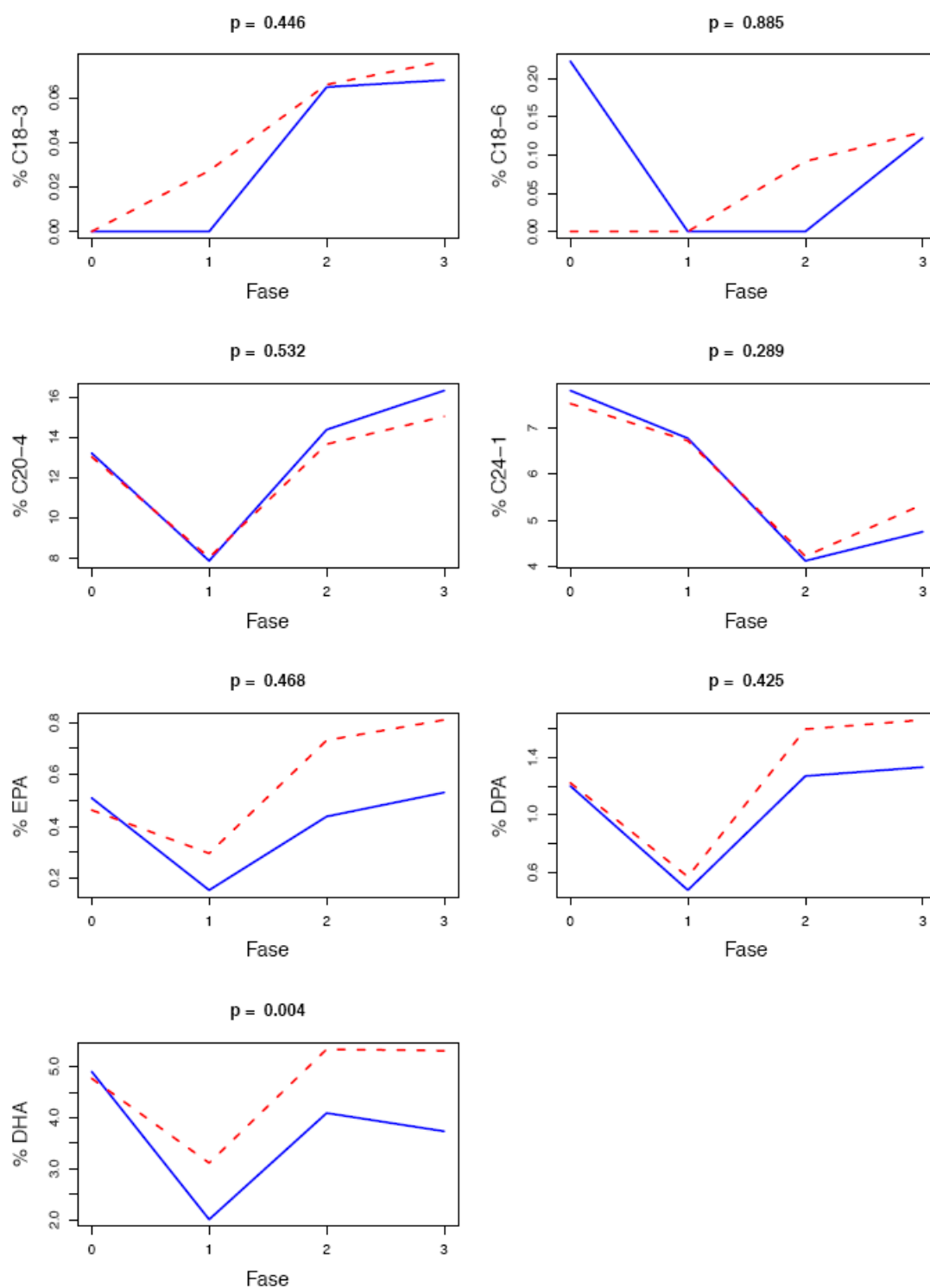


Figura 14b. Continuación. Evolución de los ácidos grasos en membrana de eritrocito materno

Control —; Suplementado- -

5.4. Determinación de la composición de ácidos grasos en leche materna.

Como se muestra en la tabla 11 y figura 15a y 15b, en el análisis del patrón lipídico de la leche materna, sólo se encuentra significación estadística para el DHA ($p < .001$) y el ácido pentadecílico ($p = 0.032$). En el caso del ácido pentadecílico, las diferencias se deben al aumento de concentración de este ácido graso saturado en el grupo control respecto al suplementado, siendo más notable en la leche madura, a los 4 meses de la lactancia.

Tabla 11a. Composición de los ácidos grasos en leche materna

Ácido	Fase	Control	Suplementado	p	p global
Ácido Láurico C12:0	0	1.695 (0.653; 2.857)	1.423 (0.899 ; 2.442)	.851	.926
	1	3.101 (2.338; 4.888)	3.588 (2.355; 6.522)	.61	
	2	2.524 (2.147; 4.011)	3.074 (2.176; 4.873)	.437	
	3	4.58 (3.259; 6.818)	4.52 (2.823; 6.644)	.73	
Ácido Mirístico C14:0	0	3.81 (2.925; 5.129)	3.949 (3.015; 4.959)	.824	.076
	1	4.553 (3.262; 6.042)	4.726 (3.065; 7.205)	.038	
	2	4.184 (3.331; 4.875)	4.727 (3.035; 6.27)	.181	
	3	7.283 (4.36; 8.261)	4.245 (3.29; 6.974)	.129	
Ácido Pentadecílico C15:0	0	0.185 (0.138; 0.225)	0.184 (0.125; 0.234)	.997	.032
	1	0.204 (0.147; 0.256)	0.189 (0.128; 0.252)	.98	
	2	0.133 (0.109; 0.202)	0.148 (0.036; 0.192)	.958	
	3	0.237 (0.161; 0.304) ^a	0.159 (0.121; 0.257) ^b	.001	
Ácido Palmítico C16:0	0	22.44 (20.046; 24.073)	22.752 (19.811; 25.101)	.51	.537
	1	20.476 (17.637; 22.795)	20.046 (16.682; 20.991)	.18	
	2	18.434 (15.31; 20.209)	17.377 (14.678; 20.081)	.848	
	3	20.181 (19.133; 22.199)	18.073 (14.069; 21.495)	.354	
Ácido Palmitoleico C16:1n-7	0	2.136 (1.483; 5.944)	2.044 (1.546; 6.373)	.342	.575
	1	3.236 (1.839; 5.604)	2.97 (1.686; 6.371)	.329	
	2	5.731 (1.198; 7.559)	5.316 (1.56; 7.28)	.908	
	3	2.945 (1.422; 5.637)	1.777 (1.285; 6.066)	.821	

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase

Tabla 11b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en leche materna.

Ácido	Fase	Control	Suplementado	p	p global
Ácido Esteárico C18:0	0	5.371 (1.653; 7.046)	4.218 (1.417; 7.364)	.584	.927
	1	5.514 (1.712; 6.923)	3.585 (1.683; 6.551)	.714	
	2	2.205 (1.534; 5.658)	2.555 (1.113; 6.553)	.819	
	3	4.703 (2.201; 6.607)	4.315 (1.748; 6.632)	.72	
Ácido Oléico C18:1n-9	0	44.408 (41.899; 45.906)	42.808 (39.587; 46.141)	.228	.281
	1	42.108 (37.692; 46.799)	42.584 (38.313; 46.695)	.486	
	2	46.614 (44.092; 51.346)	45.245 (40.636; 49.392)	.18	
	3	44.227 (38.172; 47.546)	45.864 (38.09; 51.908)	.277	
Ácido Linoleico (LA) C18:2n-6	0	14.217 (12.794; 18.05)	14.71 (12.819; 18.505)	.629	.688
	1	18.026 (14.142; 20.273)	16.035 (13.315; 19.073)	.356	
	2	16.066 (13.92; 19.542)	15.785 (14.506; 18.771)	.696	
	3	15.403 (10.116; 17.663)	13.992 (10.826; 18.106)	.413	
Ácido α linolénico (ALA) C18:3n-3	0	0.487 (0.386; 0.657)	0.451 (0.394 ; 0.585)	.972	.685
	1	0.697 (0.484; 0.879)	0.6 (0.488; 0.747)	.144	
	2	0.673 (0.554; 0.932)	0.633 (0.431; 0.862)	.678	
	3	0.686 (0.481; 0.907)	0.647 (0.532; 0.867)	.962	
Á.gamma- linolénico (GLA) C18:3n-6	0	0 (0; 0.034)	0 (0; 0)	.975	.450
	1	0.172 (0.107; 0.218)	0.141 (0.112; 0.175)	.858	
	2	0.153 (0.119; 0.219)	0.116 (0; 0.147)	.056	
	3	0.113 (0.077; 0.189)	0.103 (0.083; 0.155)	.98	

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

La concentración de DHA fue significativamente mayor en la leche materna de las madres suplementadas en las siguientes fases del estudio: leche de transición, 2,5 y 4 meses tras el parto. La mayor diferencia entre grupos se registra en la leche de transición con una $p < .001$.

Otros ácidos grasos como EPA y ARA también experimentan diferencias entre grupos aunque no significativamente de forma global. En leche de transición de las madres suplementadas se registra significativamente mayor concentración de EPA que en las del grupo control. Para el resto de las fases, aunque la concentración de EPA es

mayor en la leche de las madres del grupo DHA, no se registran diferencias estadísticas. Algo similar ocurre con la concentración de ARA, pero en el grupo control. En la leche materna del grupo control a los 2,5 meses de la lactancia se registra mayor concentración de ARA respecto al grupo DHA. En el resto de fases no se registran diferencias significativas.

Tabla 11c. Continuación. Composición de los ácidos grasos en leche materna.

Ácido	Fase	Control	Suplementado	p	p global
Ácido Araquidónico (ARA) C20:4n-6	0	1.093 (0.849; 1.503)	1.082 (0.916; 1.327)	.499	.161
	1	0.666 (0.535; 0.774)	0.539 (0.466; 0.65)	.133	
	2	0.665 (0.549; 0.794) ^a	0.532 (0.423; 0.592) ^b	.027	
	3	0.506 (0.405; 0.669)	0.552 (0.366; 0.642)	.961	
Ácido Nervónico C24:1n-9	0	0.946 (0.632; 1.302)	1.042(0.69; 1.319)	.429	.870
	1	0.125 (0.094; 0.174)	0.097 (0.085; 0.134)	.45	
	2	0.128 (0.078; 0.148)	0.09 (0; 0.117)	.791	
	3	0.05 (0.021; 0.074)	0.074 (0.033; 0.116)	.984	
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	0	0.078 (0; 0.277)	0.119 (0; 0.255)	.682	.151
	1	0.066 (0.001; 0.102) ^a	0.135 (0.073; 0.199) ^b	.021	
	2	0.052 (0; 0.1)	0.122 (0.008; 0.186)	.209	
	3	0.049 (0.011; 0.098)	0.095 (0.037; 0.145)	.268	
Ácido Docosapentaenoico (DPA) 22:5n-3	0	0.337 (0.215; 0.436)	0.381 (0.32; 0.595)	.061	.314
	1	0.137 (0.106; 0.203)	0.182 (0.13; 0.234)	.322	
	2	0.196(0.128; 0.215)	0.203 (0.154; 0.268)	.714	
	3	0.123 (0.106; 0.167)	0.174 (0.13; 0.244)	.295	
Ácido docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	0	0.767 (0.503; 1.166)	0.987 (0.836; 1.27)	.1	<.001
	1	0.382 (0.227; 0.486) ^a	0.707 (0.499; 0.872) ^b	<.001	
	2	0.366 (0.243; 0.508) ^a	0.664 (0.605; 0.977) ^b	.001	
	3	0.311 (0.226; 0.443) ^a	0.509 (0.39; 0.765) ^b	.002	

Los datos son medianas (IQR).Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

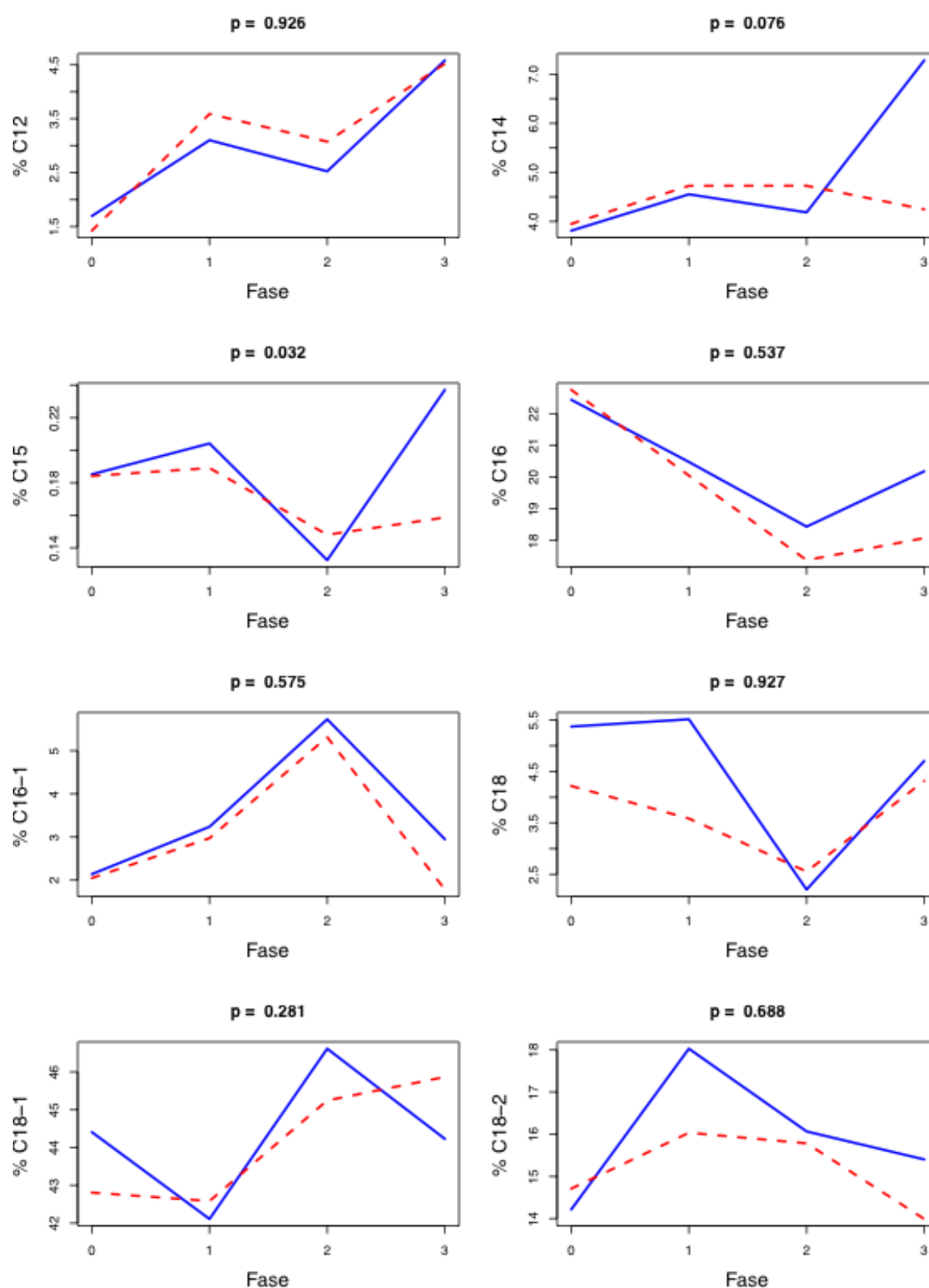


Figura 15a. Evolución de los ácidos grasos en leche materna (%)

Control —; Suplementado - -

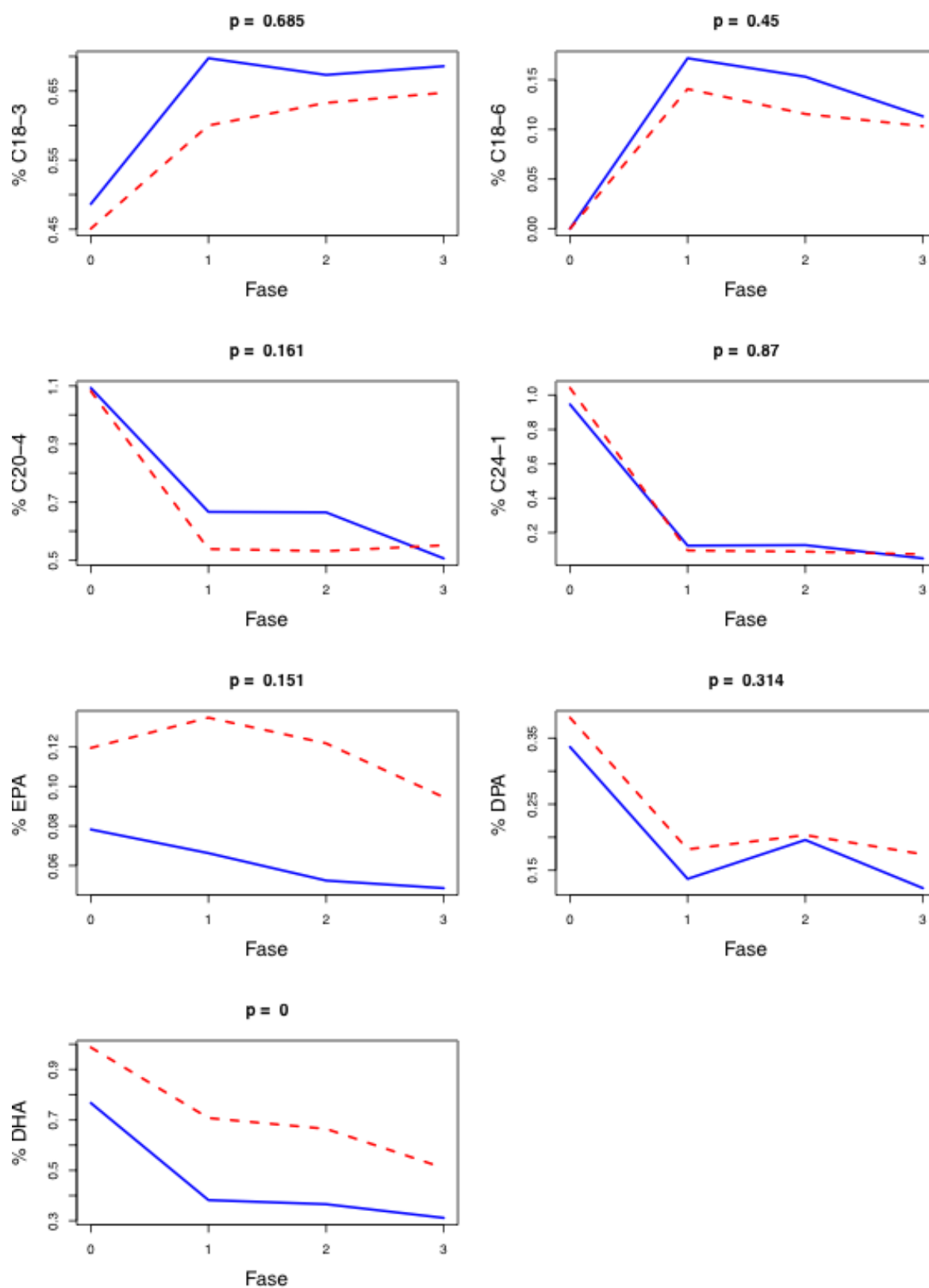


Figura 15b. Continuación. Evolución de los ácidos grasos en leche materna (%)

Control —; Suplementado - -

5.5. Determinación de ácidos grasos en plasma de hijo.

Como se muestra en la tabla 12a y 12b, el DHA y otros ácidos grasos omega-3 de cadena larga como el EPA y el ácido nervónico, registraron concentraciones significativamente mayores en el plasma de los hijos del grupo DHA.

Por su parte, la concentración de ARA fue significativamente mayor en sangre de cordón umbilical del grupo control respecto al suplementado. El ácido GLA también fue significativamente mayor en el plasma de los niños del grupo control a los dos meses y medio de vida. Una tendencia similar registraron los ácidos grasos saturados analizados aunque no se encuentran diferencias estadísticamente significativas, salvo para el ácido esteárico cuya concentración fue significativamente mayor en sangre de cordón umbilical de los niños del grupo control.

La concentración de EPA fue significativamente mayor ($p=0.013$) en sangre de cordón umbilical de los niños cuyas madres fueron suplementadas con DHA. De hecho la media de concentración de EPA en sangre de cordón umbilical de los niños del grupo control fue cero. A los 2,5 meses de vida, la concentración de EPA sigue siendo significativamente mayor en el plasma de los niños del grupo suplementado ($p=0.023$).

En el caso del DHA aunque las concentraciones fueron mayores en el grupo suplementado, no se hallan diferencias estadísticas en la sangre de cordón umbilical. A los 2,5 meses de vida, sí se registran concentraciones significativamente mayores en el plasma de los niños del grupo DHA.

En el análisis destaca también el comportamiento del ácido nervónico. Los niños del grupo suplementado tenían mayor concentración del mismo en plasma a los dos meses y medio de vida, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p=0.026$).

Tabla 12a. Composición de los ácidos grasos en plasma de hijo.

Ácido	Fase	Control	Suplementado	p valor
Ácido Láurico C12:0	0	0 (0; 0)	0 (0; 0)	
	1	0 (0; 0.653)	0 (0; 0)	.619
Ácido Mirístico C14:0	0	0.894 (0.697; 1.062)	0.893 (0.594; 1.022)	.468
	1	1.247 (0.828; 1.95)	0.96 (0.66; 1.881)	.169
Á. Pentadecílico C15:0	0	0 (0; 0)	0 (0; 0.112)	.178
	1	0.057 (0; 0.149)	0.026 (0; 0.129)	.517
Ácido Palmítico C16:0	0	29.74 (19.424; 31.166)	28.978 (20.734; 31.541)	.793
	1	18.402 (17.104; 25.016)	17.262 (16.117; 23.359)	.36
Á. Palmitoleico C16:1n-7	0	3.147 (2.421; 3.872)	2.965 (2.149; 4.032)	.498
	1	0.847 (0.767; 1.107)	0.77 (0.692; 0.978)	.215
Ácido Esteárico C18:0	0	11.154 (10.724; 11.689) ^a	10.641 (9.817; 11.492) ^b	.05
	1	9.377 (8.728; 10.009)	9.66 (9.25; 10.055)	.321
Ácido Oleico C18:1n-9	0	18.874 (17.595; 20.643)	19.278 (17.319; 20.714)	.793
	1	29.04 (26.475; 31.35)	27.038 (24.421; 29.051)	.075
Ácido Linoleico C18:2n-6	0	12.711 (11.029; 13.916)	12.748 (10.88; 14.122)	.635
	1	23.956 (21.688; 25.62)	24.928 (23.546; 26.385)	.127
Ácido α Linolénico C18:3n-3	0	0 (0; 0) ^a	0 (0; 0) ^b	.026
	1	0.403 (0.266; 0.612)	0.289 (0.221; 0.554)	.151
Á.gamma-linolénico C18:3n-6	0	0 (0; 0.473)	0 (0; 0.395)	.86
	1	0.207 (0.155; 0.256) ^a	0.136 (0; 0.185) ^b	.002
Ác. Araquidónico C20:4n-6	0	15.692 (13.46; 19.472) ^a	13.898 (12.089; 16.958) ^b	.044
	1	7.109 (5.601; 9.112)	7.283 (6.342; 8.519)	.503
Á. Nervónico C24:1n-9	0	2.39 (1.94; 3.747)	2.223 (1.973; 3.445)	.641
	1	1.801 (1.242; 3.628) ^a	3.788 (1.632; 4.524) ^b	.026

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

Tabla 12b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en plasma de hijo.

Ácido	Fase	Control	Suplementado	P
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	0	0 (0; 0.217) ^a	0.22 (0; 0.343) ^b	.013
	1	0.231 (0.17; 0.329) ^a	0.384 (0.244; 0.48) ^b	.023
Ácido Docosapentaenoico (DPA) 22:5n-3	0	0.592 (0.384; 0.808)	0.509 (0.232; 0.672)	.133
	1	0.435 (0.16; 0.585)	0.473 (0.237; 0.627)	.54
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	0	4.931 (3.73; 8.624)	5.158 (4.267; 6.876)	.972
	1	2.654 (1.701; 4.292) ^a	4.715 (3.219; 5.165) ^b	.003

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

También se analizó si los niveles de DHA plasmático variaban según el género del niño, no encontrando diferencias significativas. Los datos se resumen en la tabla 13 y figura 16.

Tabla 13. Comparación de los niveles de DHA según género del niño.

DHA	Fase	Varones	Mujeres	P
	0	4.96 (3.77 ; 5.88)	4.72 (3.95 ; 8.35)	.496
	1	3.65 (1.87 ; 4.83)	3.14 (2.12 ; 4.58)	.670

Los datos son medianas (IQR).

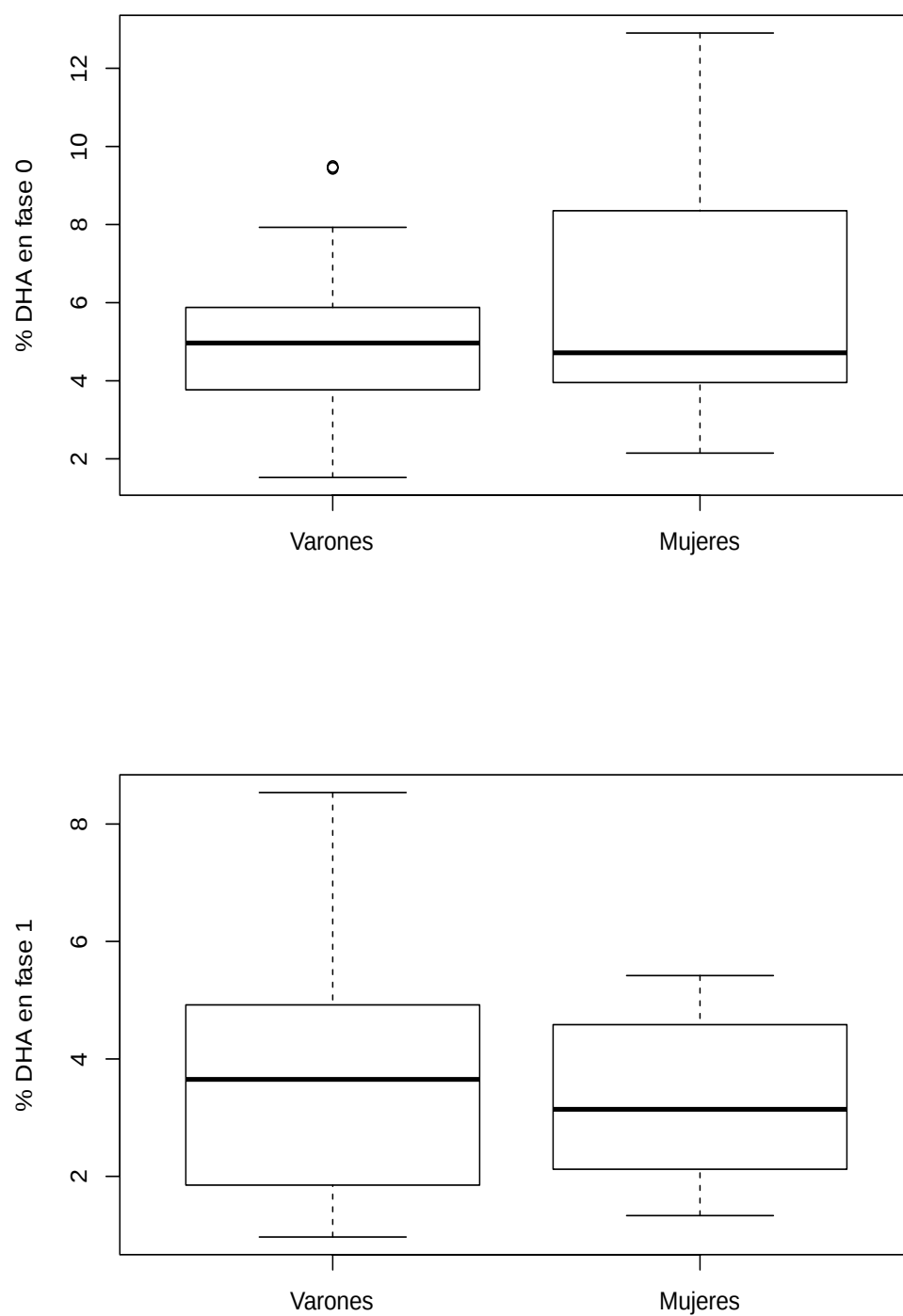


Figura 16. Niveles de DHA según género y fase

5.6. Determinación de ácidos grasos en membrana de eritrocitos de hijo.

El patrón de ácidos grasos en la membrana de los eritrocitos de hijo registra un patrón similar al plasma, como se muestra en la tabla 14a y 14b. La concentración de DHA y otros ácidos grasos omega-3 fue mayor en el grupo suplementado.

Las concentraciones de ácidos grasos saturados como el ácido mirístico, el palmitoleico y el esteárico fueron significativamente mayores en el grupo control. Para otros ácidos grasos saturados las concentraciones fueron también mayores en el grupo control pero no de forma significativa.

La concentración de DHA fue significativamente mayor en la membrana de los eritrocitos de los niños del grupo suplementado tanto al nacimiento ($p=0.027$) como a los dos meses y medio de vida, donde la diferencia se hace más evidente entre grupos ($p<0.001$).

El EPA también presentó un comportamiento similar aunque las diferencias no resultaron estadísticamente significativas a los 2 meses y medio de vida. Sí al nacimiento. En cuanto al ácido nervónico no se registraron diferencias estadísticas pero, si destaca que a los 2 meses y medio de vida los niños pertenecientes al grupo DHA presentaban mayor concentración de este ácido graso en la membrana de sus eritrocitos.

Por su parte, el ácido linoleico, precursor de la serie omega-6, registró mayor concentración en la membrana de los eritrocitos de sangre de cordón umbilical del grupo suplementado aunque es un hallazgo que no se mantiene en la siguiente fase.

Tabla 14a. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos de hijo.

Ácido	Fase	Control	Suplementado	P valor
Ácido Láurico C12:0	0	0 (0; 0)	0 (0; 0)	.362
	1	2.116 (1.517; 2.704)	1.481 (0.97; 2.42)	.166
Ácido Mirístico C14:0	0	0.281 (0; 0.377)	0.26 (0; 0.304)	.251
	1	2.403 (1.811; 3.449) ^a	1.757(1.481; 2.433) ^b	.048
Á. Pentadecílico C15:0	0	0.102 (0; 0.267)	0.078 (0; 0.112)	.132
	1	0.13 (0.061; 0.226)	0.101 (0; 0.166)	.112
Ácido Palmítico C16:0	0	32.043 (25.96; 36.971)	27.395 (25.618; 31.132)	.054
	1	27.498 (26.22; 29.416)	26.024 (22.551; 29.078)	.117
Á. Palmitoleico C16:1n-7	0	0.636 (0.503; 0.834)	0.663 (0.55; 0.752)	.893
	1	0.66 (0.345; 0.936) ^a	0.314 (0; 0.594) ^b	.005
Ácido Esteárico C18:0	0	25.582 (22.145; 29.215) ^a	21.113 (20.122; 24.115) ^b	.005
	1	15.362 (12.947; 16.886)	15.576 (14.979; 17.686)	.278
Ácido Oleico C18:1n-9	0	13.393 (11.517; 14.78)	13.657 (12.512; 16.009)	.387
	1	21.329 (17.582; 27.908)	19.772 (18.846; 21.058)	.325

Los datos son medianas (IQR).Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

Tabla 14b. Continuación. Composición de los ácidos grasos en membrana de eritrocitos de hijo.

Ácido	Fase	Control	Suplementado	P valor
Ácido Linoleico C18:2n-6	0	3.636 (3.088; 4.375) ^a	4.839 (4.358; 5.361) ^b	.003
	1	10.566 (9.334; 11.817)	10.68 (8.868; 11.154)	.67
Ácido α Linolénico C18:3n-3	0	0.037 (0; 0.063)	0.054 (0; 0.696)	.201
	1	0.217 (0; 0.333)	0 (0; 0.214)	.089
Á. gamma-linolénico C18:3n-6	0	0.05 (0; 0.064)	0.046 (0; 0.07)	.862
	1	0 (0; 0.012)	0 (0; 0.045)	.827
Ác. Araquidónico C20:4n-6	0	12.763 (7.346; 19.759)	18.942 (12.865; 20.381)	.179
	1	10.518 (8.51; 13.042)	11.79 (10.535; 13.358)	.087
Á. Nervónico C24:1n-9	0	5.851 (4.331; 7.337)	5.472 (4.726; 6.413)	.806
	1	1.795 (1.463; 2.578)	2.048 (1.694; 2.821)	.421
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) 20:5n-3	0	0.059 (0.041; 0.075) ^a	0.114 (0.087; 0.181) ^b	<.001
	1	0.123 (0; 0.214)	0.19 (0; 0.404)	.177
Ácido Docosapentaenoico (DPA) 22:5n-3	0	0.773 (0.632; 1.033)	0.884 (0.666; 1.048)	.49
	1	0.625 (0.441; 0.908)	0.943 (0.633; 1.198)	.131
Ácido Docosahexaenoico (DHA) 22:6n-3	0	3.691 (1.918; 5.941) ^a	5.852 (3.64; 7.041) ^b	.027
	1	2.985 (2.505; 4.654) ^a	5.713 (4.154; 7.224) ^b	.001

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

5.7. Determinación de citoquinas en plasma de madre.

El análisis de las citoquinas estudiadas: GM-CSF, IL-2, IL4, IL-6, IL-10, INF- γ y TNF- α , se resume en la tabla 15 y su evolución en el tiempo en la figura 17.

Se objetiva un aumento significativo de algunas citoquinas inmunosupresoras como la IL-10, la IL-2 y la IL-4 en el grupo DHA respecto al grupo control. La concentración de la IL-10 aumenta progresivamente en el grupo suplementado a lo largo del tiempo, desde el momento del reclutamiento hasta el final del periodo de la lactancia que fue el final de la intervención dietética. Sin embargo, en el grupo control desciende en el momento del parto hasta casi la mitad de las cifras detectadas en el grupo suplementado. Después del parto, en este mismo grupo, tiende a aumentar siguiendo una tendencia similar al grupo DHA aunque detectándose en menor concentración respecto a éste durante el periodo de la lactancia ($p=0.06$).

En el caso de la IL-2, hallamos mayor concentración en el grupo DHA a lo largo del tiempo de suplementación. Sin embargo, en el grupo control se detecta un aumento en sus niveles en el momento del parto con un descenso posterior, en el periodo de la lactancia, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas.

La IL-4 se comporta casi de forma similar a la IL-10 con diferencias estadísticamente significativas entre grupos, siendo mayor la concentración en el plasma de las madres pertenecientes al grupo suplementado ($p=0.009$) a lo largo de todo el tiempo de la intervención dietética.

Por otro lado, al analizar las citoquinas proinflamatorias encontramos que las concentraciones de la IL-6 y el TNF- α son mayores en el grupo control. En el caso de la IL-6 se encuentran diferencias estadísticamente significativas en el momento del parto ($p<0.001$) detectándose en el grupo control niveles 1,6 veces mayores que en el grupo DHA. El TNF- α también se encuentra en mayor concentración en el grupo control y aunque las diferencias no son estadísticamente significativas ($p=0.085$) cabe destacar

que en el momento del parto, los niveles detectados entre ambos grupos presentan una diferencia no menospreciable, siendo mayores en el grupo control.

Por el contrario, el INF- γ presenta mayores niveles en el grupo DHA pero las diferencias detectadas no son significativas en ninguna de las fases estudiadas.

Por su parte, el GM-CSF aumenta de forma significativa en el momento del parto en el grupo DHA, experimentando un descenso a los 2 meses y medio post-parto. En el grupo control, el comportamiento del GM-CSF sigue un patrón lineal sin grandes cambios durante el tiempo del estudio, disminuyendo discretamente en el momento del parto, al contrario de lo que sucede en el grupo DHA donde se registra un aumento considerable de su concentración plasmática. Las diferencias detectadas entre ambos grupos son estadísticamente significativas.

Tabla 15. Distribución de las citoquinas en plasma de madre.

Citoquina	Fase	Control	DHA	p	p global
GM-CSF	0	4.372 (1.345; 6.145)	5.406 (2.541; 10.048)	1	.030
	1	3.862 (3.207; 8.66) ^a	10.825 (5.207; 14.491) ^b	.013	
	2	4.677 (3.137; 7.335)	5.736 (4.575; 10.367)	.109	
IL-10	0	39.264 (23.086; 49.914)	36.248 (20.798; 68.83)	1	.060
	1	27.201 (18.557; 34.114) ^a	46.585 (21.565; 62.406) ^b	.046	
	2	56.416 (43.194; 66.41)	69.431 (51.098; 74.929)	.185	
IL-2	0	1.11 (0.892; 1.222)	1.447 (1.082; 1.668)	1	.150
	1	1.704 (0.929; 3.304)	1.924 (0.617; 3.399)	.776	
	2	1.428 (1.077; 2.234)	2.912 (1.566; 4.303)	.06	
IL-4	0	10.729 (7.076; 14.415)	12.251 (9.713; 17.486)	1	.009
	1	7.668 (4.627; 9.275)	11.503 (8.359; 13.316)	.091	
	2	14.057 (11.984; 21.587) ^a	24.023 (15.015; 28.847) ^b	.007	
IL-6	0	5.698 (4.904; 6.076)	5.655 (4.195; 8.313)	1	.001
	1	42.3 (29.098; 63.343) ^a	25.131 (16.482; 48.538) ^b	<.001	
	2	10.246 (5.151; 12.975)	8.688 (3.73; 10.331)	.806	
INF- γ	0	8.93 (4.714; 19.073)	12.036 (7.025; 16.04)	1	.989
	1	4.161 (2.824; 10.112)	6.151 (1.706; 15.663)	.994	
	2	19.266 (13.636; 28.733)	25.385 (16.507; 30.665)	.883	
TNF- α	0	15.77 (12.568; 18.063)	14.886 (9.905; 23.113)	1	.085
	1	11.901 (10.674; 15.139)	10.674 (8.349; 13.939)	.055	
	2	24.505 (21.388; 26.077)	23.391 (17.844; 25.412)	.262	

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

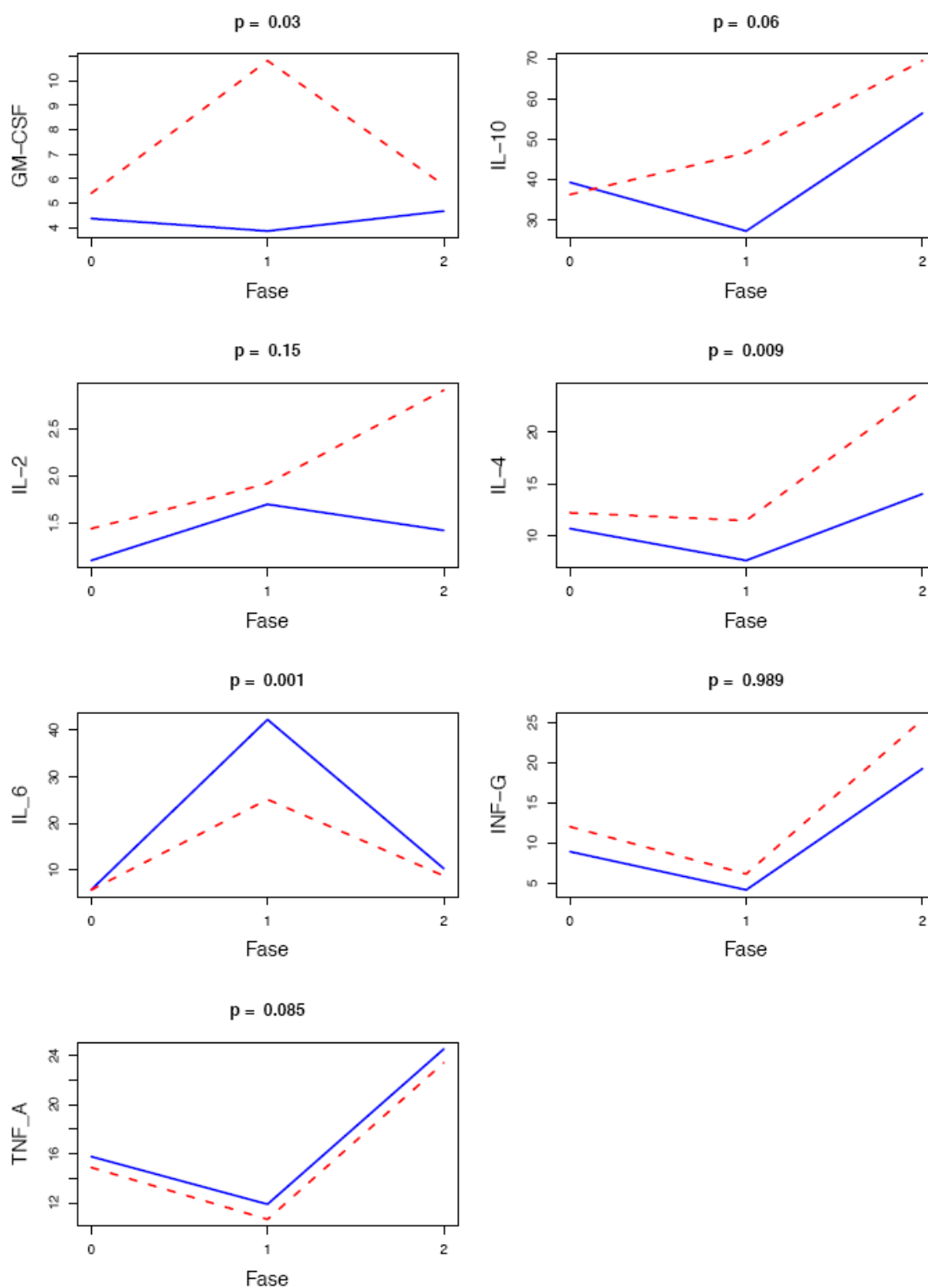


Figura 17. Distribución de las citoquinas en plasma de madre.

Control —; Suplementado - -

5.8. Determinación de citoquinas en plasma de hijo.

Las citoquinas en el plasma de los hijos presentan un patrón diferente al plasma materno.

La IL-10 presenta niveles casi equitativos en ambos grupos, detectándose un discreto aumento en el grupo suplementado a los dos meses y medio de vida aunque no con significación estadística. La IL-2 y la IL-4 presentan mayores concentraciones en el grupo control aunque tampoco en este caso se detectan diferencias significativas.

Por el contrario, sí se encuentran diferencias considerables para la IL-6 y el TNF- α en el momento del nacimiento y para el TNF- α también, a los 2 meses y medio de vida. Ambas citoquinas se encuentran en mayor concentración en el grupo control que en el DHA.

El INF- γ se comporta prácticamente igual en ambos grupos en el momento del nacimiento. A los dos meses y medio de vida, aumenta y se registra mayor concentración en el grupo control, aunque no de forma estadísticamente significativa. Por el contrario el GM-CSF se detecta en mayor concentración en plasma de los hijos pertenecientes al grupo DHA a los dos meses y medio de vida con diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, al nacimiento las cifras son mayores en el grupo control aunque los datos no son consistentes.

Los resultados se resumen en la tabla 16 y el comportamiento de las citoquinas a lo largo del tiempo en la figura 18.

Tabla 16. Distribución de las citoquinas en plasma de hijo.

Citoquinas	Fase	Control	Suplementado	P
GM-CSF	0	4.741 (2.514; 6.689)	3 (2.311; 4.235)	.064
	1	7.046 (4.918; 7.502) ^a	7.81 (5.41; 10.733) ^b	.026
IL-10	0	37.657 (29.044; 50.904)	37.657 (31.233; 41.827)	.528
	1	110.324 (95.938; 133.966)	113.105 (92.191; 118.392)	.657
IL-2	0	0.695 (0.259; 0.91)	0.78 (0.594; 1.017)	.803
	1	3.943 (2.456; 5.163)	2.767 (2.475; 5.927)	.579
IL-4	0	9.713 (7.261; 13.91)	7.517 (6.079; 9.383)	.589
	1	49.455 (38.889; 66.351)	43.235 (33.27; 73.603)	.779
IL-6	0	32.637 (24.449; 73.234) ^a	23.313 (18.936; 36.936) ^b	.008
	1	10.59 (7.99; 14.656)	10.59 (8.862; 16.634)	.766
INF- γ	0	4.161 (3.482; 9.002)	4.161 (2.033; 6.812)	.477
	1	38.304 (31.97; 49.058)	37.521 (25.487; 42.192)	.573
TNF- α	0	25.439 (19.654; 31.581) ^a	21.267 (17.155; 22.254) ^b	.019
	1	39.968 (33.973; 54.791) ^a	37.707 (28.346; 47.221) ^b	.017

Los datos son medianas (IQR). Diferentes superíndices indican diferencias significativas en fase.

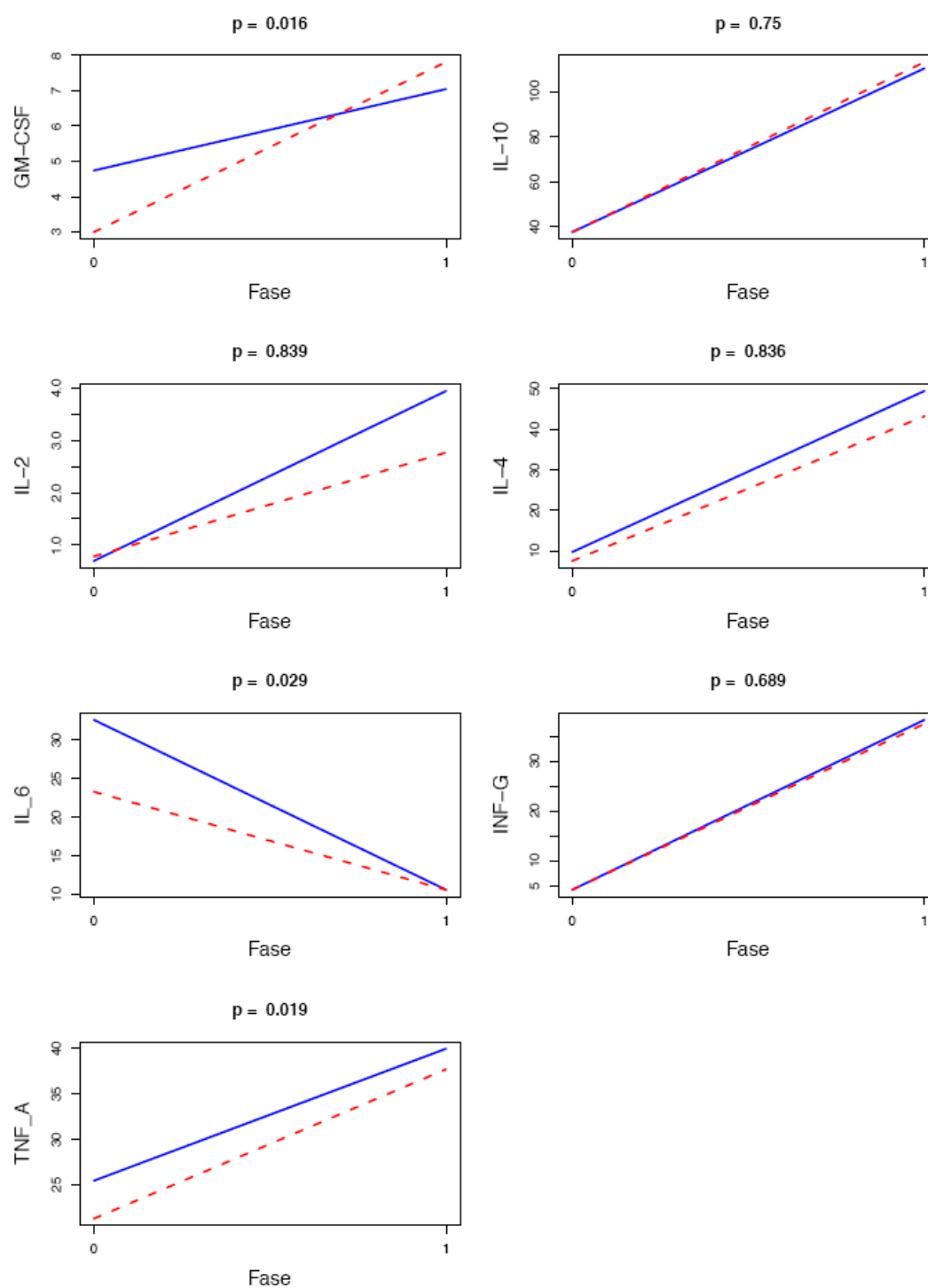


Figura 18. Distribución de las citoquinas en plasma de hijo.

Control —; Suplementado - -

5.9. Relación entre el DHA del plasma y membrana de eritrocitos materno con las citoquinas.

Se analiza si existe relación entre las concentraciones de DHA acumuladas en el plasma y la membrana de eritrocitos de la madre con los niveles de citoquinas hallados en el momento del parto y dos meses y medio después en el plasma materno.

5.9.1 Relación entre el DHA plasmático y citoquinas.

En el momento del parto no se hallan correlaciones significativas entre el DHA del plasma materno con los niveles de citoquinas en plasma. Sin embargo a los 2,5 meses tras el parto, que supone unos 5 meses y medio tras el inicio de la intervención dietética, se halla correlación inversa y estadísticamente significativa entre el DHA acumulado en el plasma materno y los niveles de IL-6. De manera que a mayor concentración de DHA, menores son los niveles detectados de IL-6 en el plasma de la madre. Los datos se muestran en la tabla 17 y figuras 19 y 20.

5.9.2 Relación entre el DHA de membrana de eritrocitos y citoquinas.

Se encuentra correlación entre el DHA acumulado en la membrana de los eritrocitos materno y el factor estimulante de las colonias de macrófagos y granulocitos tanto en el momento del parto como tras 2,5 meses del mismo. Se relacionan de una forma directamente proporcional y estadísticamente significativa. De manera que a mayor concentración de DHA en la membrana de los eritrocitos, mayores son los niveles de GM-CSF en el plasma. Las asociaciones se muestran en la tabla 18 y figura 21 y 22.

Tabla 17. Correlaciones de Spearman % de DHA en plasma materno y citoquinas.

Citoquina	Reclutamiento		Parto		2.5 m tras parto	
	Rho	P-valor	Rho	P-valor	Rho	P-valor
GM-CSF	0,0577	0,7841	0,1701	0,3362	0,0782	0,6982
IL-10	0,0067	0,9727	0,2780	0,1114	0,0451	0,8163
IL-2	0,1552	0,4795	-0,0644	0,7650	-0,0474	0,8108
IL-4	-0,2060	0,3232	0,1000	0,6342	0,2502	0,1905
IL-6	-0,0939	0,6279	-0,1102	0,5350	-0,4691	0,0103
INF- γ	0,0328	0,8659	-0,0694	0,7207	-0,1632	0,3977
TNF- α	-0,0520	0,7889	-0,0971	0,5849	-0,1338	0,4889

Rho = Coeficiente de correlación de Spearman; P Ho: No hay correlación

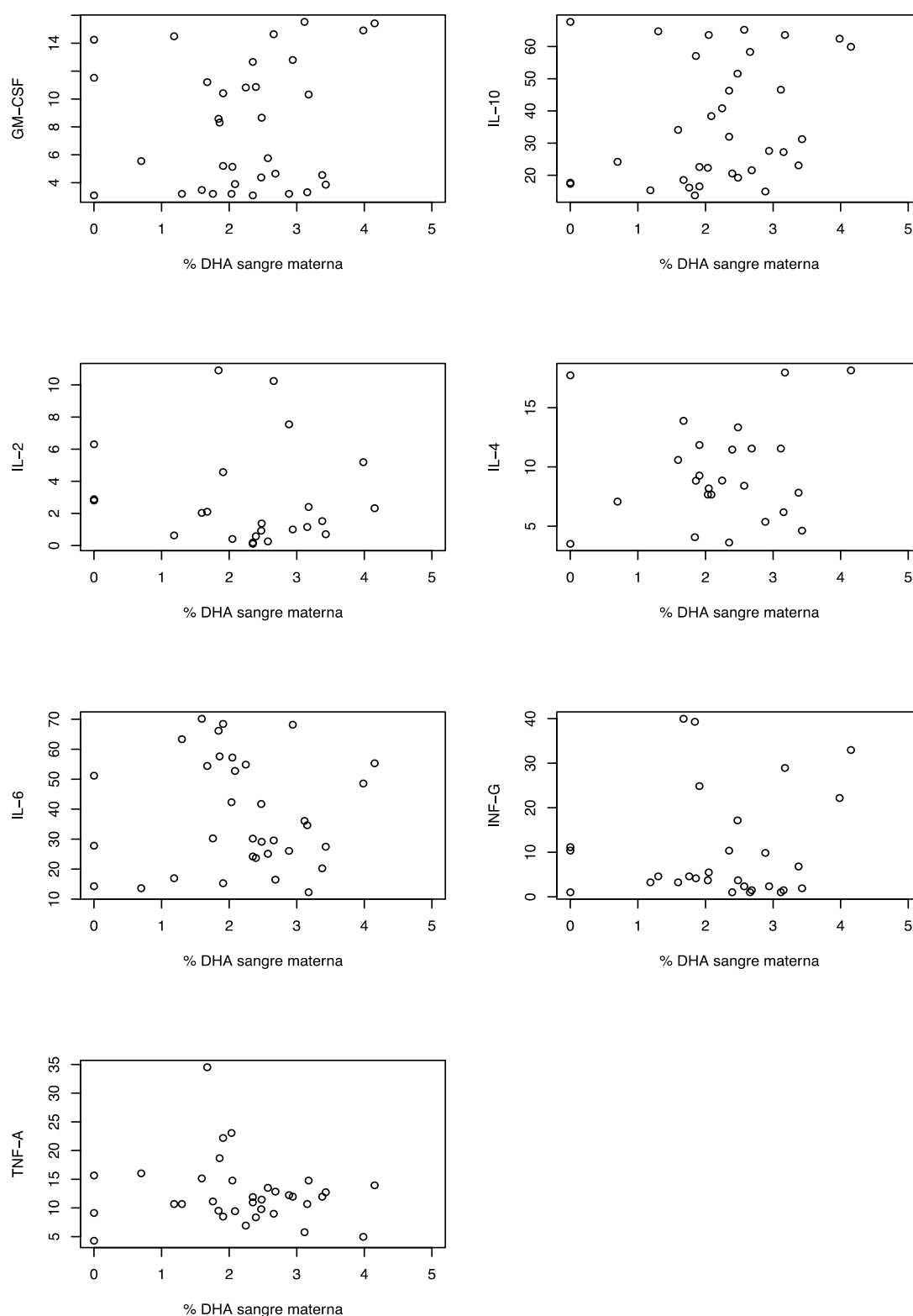


Figura 19. Correlación entre el DHA en plasma materno con las citoquinas en el momento del parto.

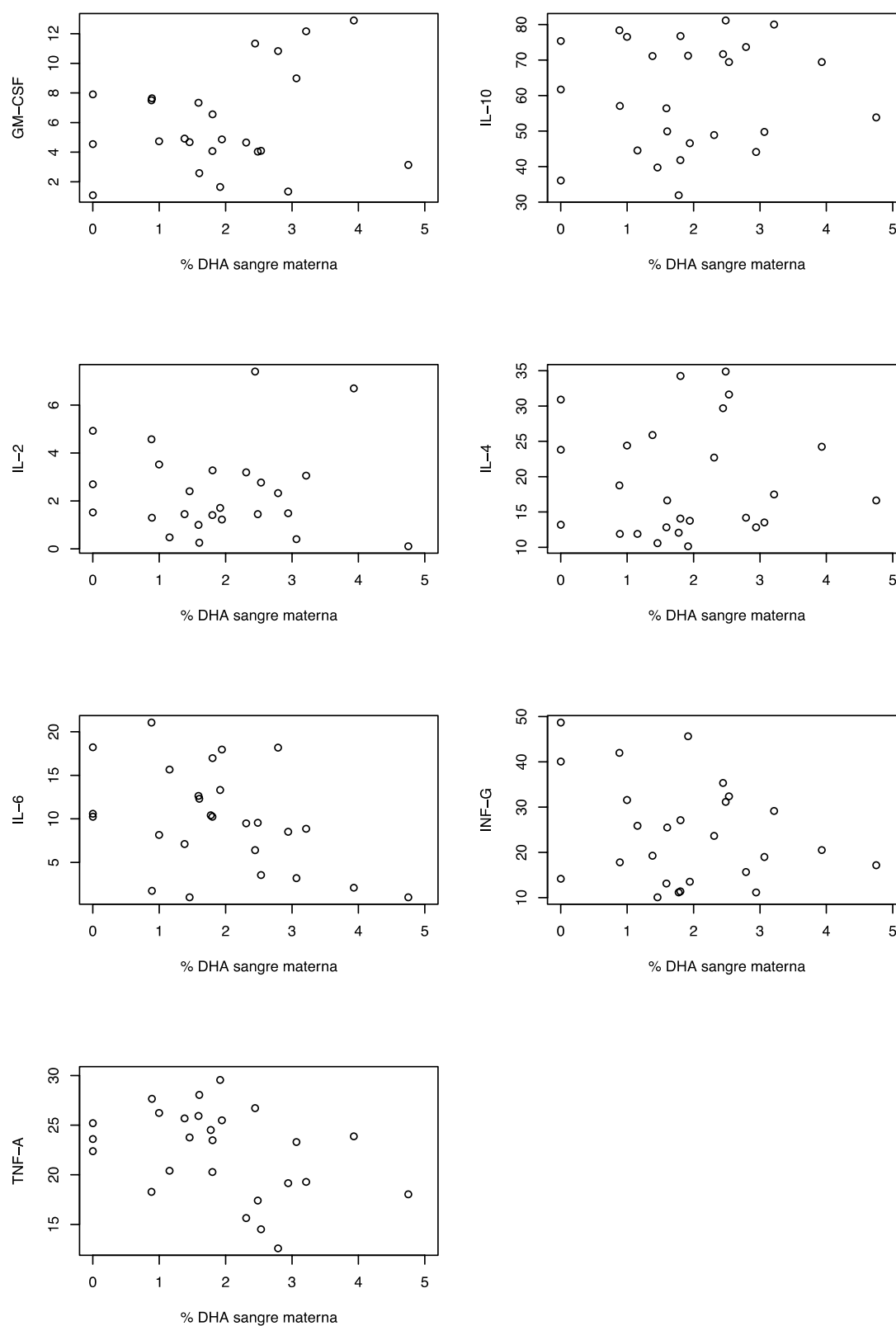


Figura 20. Correlación entre el DHA en plasma materno con las citoquinas a los 2,5 meses tras el parto.

Tabla 18. Correlaciones de Spearman entre el % de DHA en eritrocitos de la madre y las citoquinas.

Citoquina	Reclutamiento		Parto		2.5 m tras parto	
	Rho	P-valor	Rho	P-valor	Rho	P-valor
GM-CSF	0,0969	0,6601	0,3926	0,0351	0,4101	0,0375
IL-10	0,2746	0,1656	-0,0202	0,9176	0,2247	0,2598
IL-2	0,3301	0,1439	0,3825	0,1069	0,2556	0,1982
IL-4	0,0633	0,7742	0,2488	0,2768	0,3353	0,0873
IL-6	0,0064	0,9747	0,1552	0,4199	-0,1992	0,3192
INF- γ	0,1134	0,5735	-0,2211	0,2992	0,1099	0,5839
TNF- α	0,0260	0,8978	-0,2523	0,1866	-0,1148	0,5686

Rho = Coeficiente de correlación de Spearman; P H0: No hay correlación

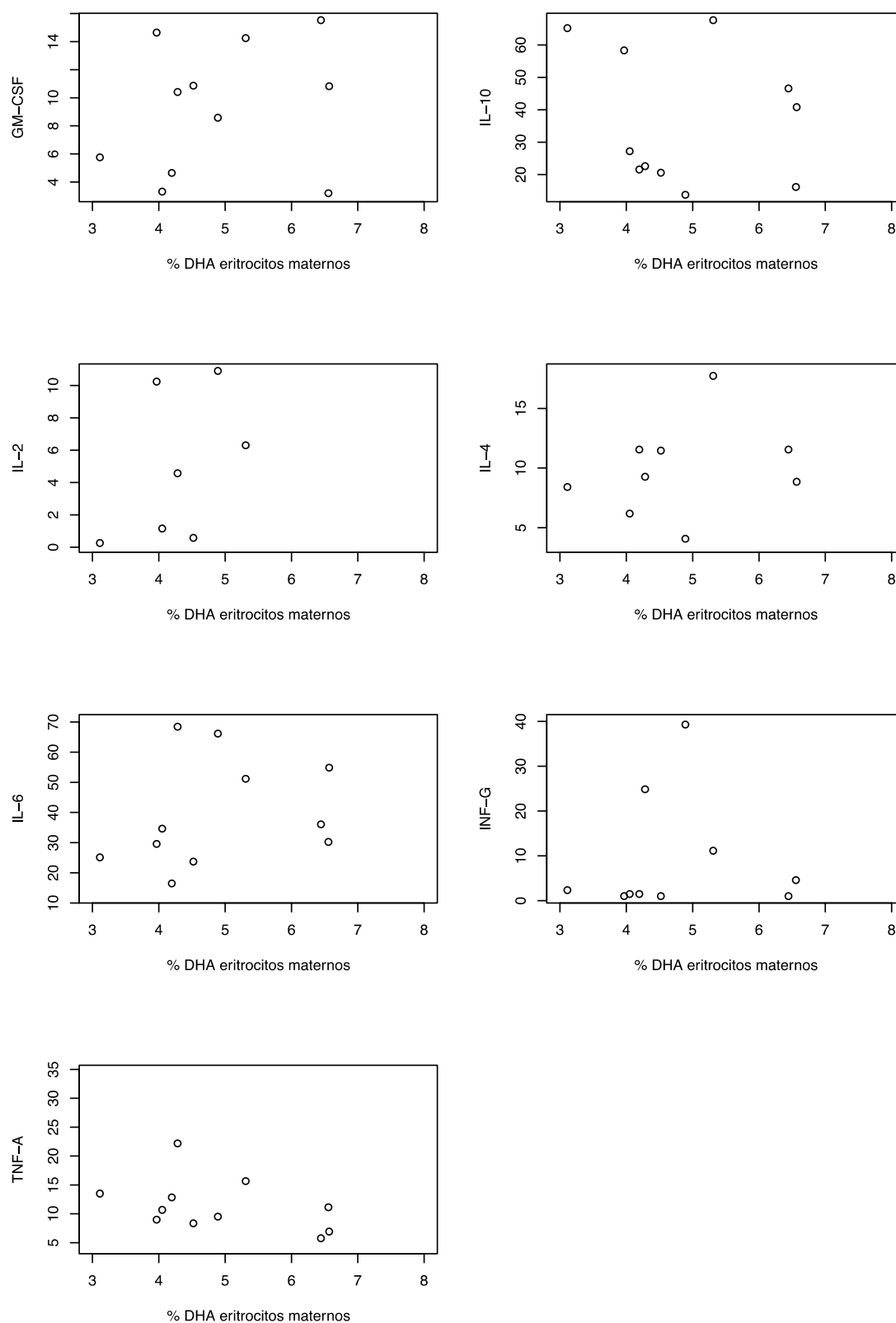


Figura 21. Correlación entre el DHA en eritrocitos de madre con las citoquinas en el momento del parto.

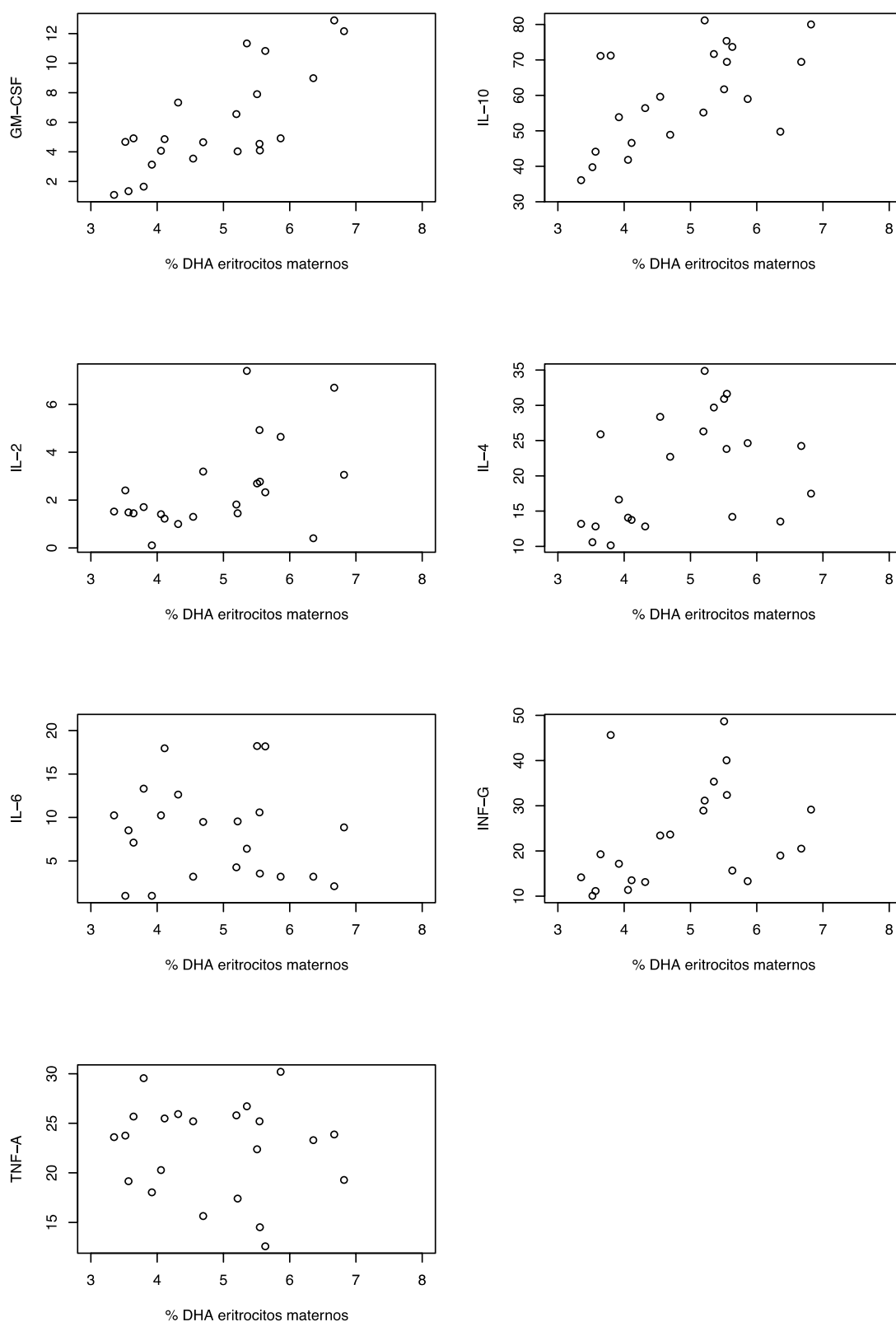


Figura 22. Correlación entre el DHA en eritrocitos de madre con las citoquinas a los 2,5 meses tras el parto.

5.10. Relación entre el DHA en leche materna y las citoquinas.

Analizamos si la cantidad de DHA contenido en la leche materna puede influir sobre los niveles de las citoquinas en el plasma del hijo. Utilizamos las muestras de la leche materna de los 2,5 meses tras el parto y las cruzamos con las muestras de plasma de los hijos. Los resultados obtenidos no muestran significación estadística. De modo que no podemos demostrar que exista una correlación entre la concentración de DHA de la leche materna y las citoquinas del plasma de hijo.

La asociación se resume en la tabla 19 y figura 23.

Tabla 19. Correlaciones de Spearman entre el %DHA en leche materna y las citoquinas de los hijos.

Citoquina	2.5m tras el parto	
	Rho	P-valor
GM-CSF	0,2581	0,1848
IL-10	-0,0679	0,7314
IL-2	0,1600	0,4252
IL-4	0,2206	0,2592
IL-6	0,2632	0,1760
INF- γ	0,3156	0,1019
TNF- α	0,0090	0,9636

Rho = Coeficiente de correlación de Spearman; P H0: No hay correlación

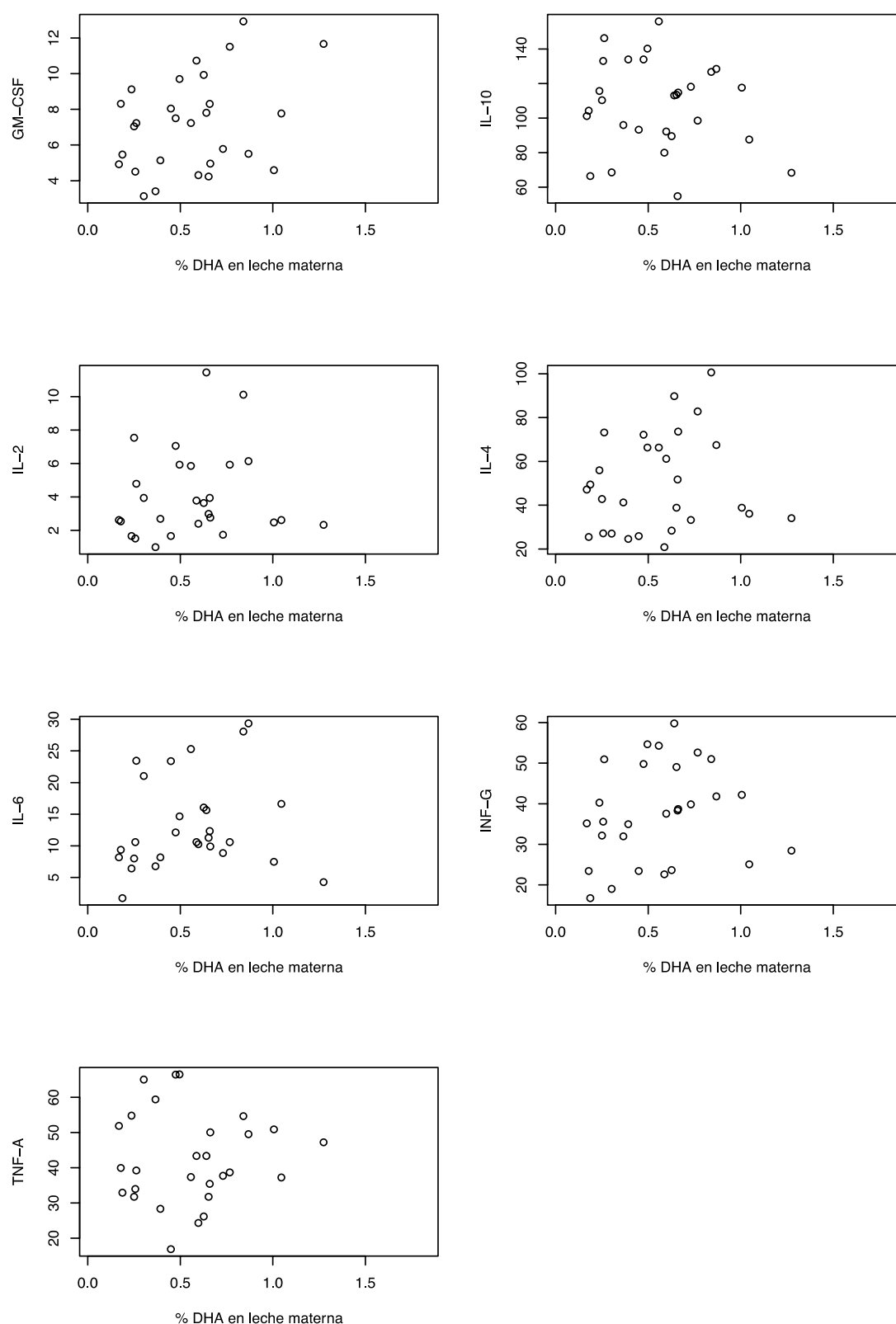


Figura 23. Correlación entre el DHA en leche materna con las citoquinas de hijo a los 2,5 meses de lactancia.

5.11. Relación entre el DHA en plasma y membrana de eritrocitos de hijo y las citoquinas.

5.11.1. Relación entre el DHA plasmático y citoquinas.

No hemos encontrado correlaciones significativas en el análisis de las correlaciones entre el DHA del plasma de los hijos y sus niveles de citoquinas. Los datos se resumen en la tabla 20 y figuras 24 y 25.

5.11.2. Relación entre el DHA de membrana de eritrocitos y citoquinas.

En el caso de la concentración de DHA en la membrana de eritrocitos, se detecta correlación entre el DHA acumulado en la membrana de eritrocitos con el GM-CSF en el momento del nacimiento. La asociación entre ambos es inversamente proporcional. En este sentido mayor concentración de DHA en la membrana de los eritrocitos se traduce en menores niveles de GM-CSF en el plasma. A los 2,5 meses de vida esta correlación no se mantiene. Por el contrario aparece una correlación nueva, directamente proporcional, entre el DHA y la IL-10. De manera que mayor concentración de DHA se correlaciona de forma positiva con los niveles de IL-10. Para el resto de citoquinas no se encuentran correlaciones con la concentración de DHA en la membrana de los eritrocitos.

Las asociaciones se resumen en la tabla 21 y figuras 26 y 27.

Tabla 20. Correlaciones de Spearman entre el DHA en plasma de los hijos y las citoquinas de los hijos.

Citoquina	Nacimiento		2.5 m de vida	
	Rho	P-valor	Rho	P-valor
GM-CSF	-0.2477	0.1791	0.0949	0.6745
IL-10	0.0196	0.9168	0.0655	0.7720
IL-2	-0.0369	0.8922	0.0871	0.7074
IL-4	-0.2008	0.3056	-0.0983	0.6635
IL-6	-0.1954	0.2922	0.1192	0.5971
INF- γ	0.0353	0.8505	0.1536	0.4949
TNF- α	-0.0323	0.8632	-0.0825	0.7152

Rho = Coeficiente de correlación de Spearman; P H₀: No hay correlación

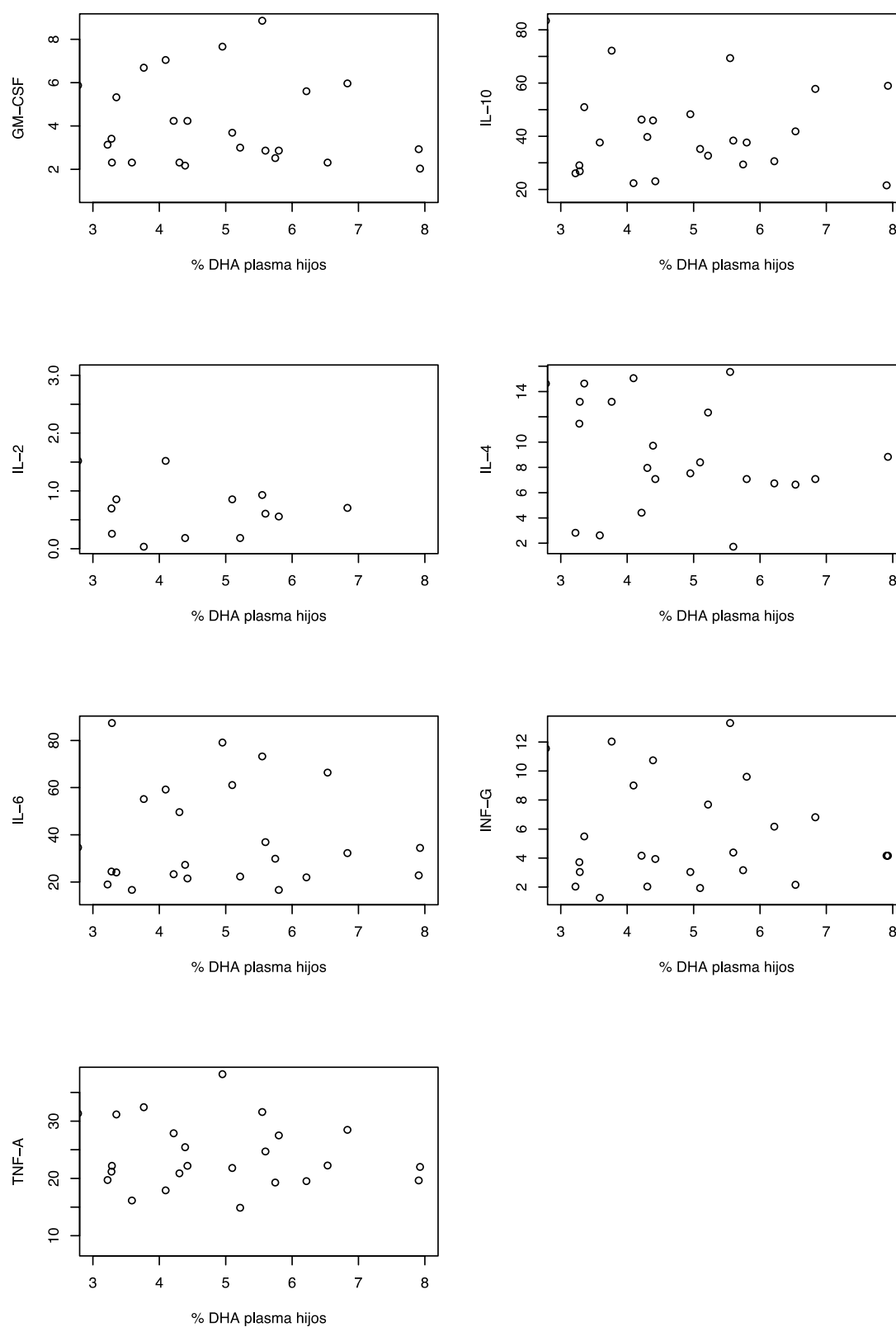


Figura 24. Asociación entre el DHA en plasma de hijo con las citoquinas en el momento del parto.

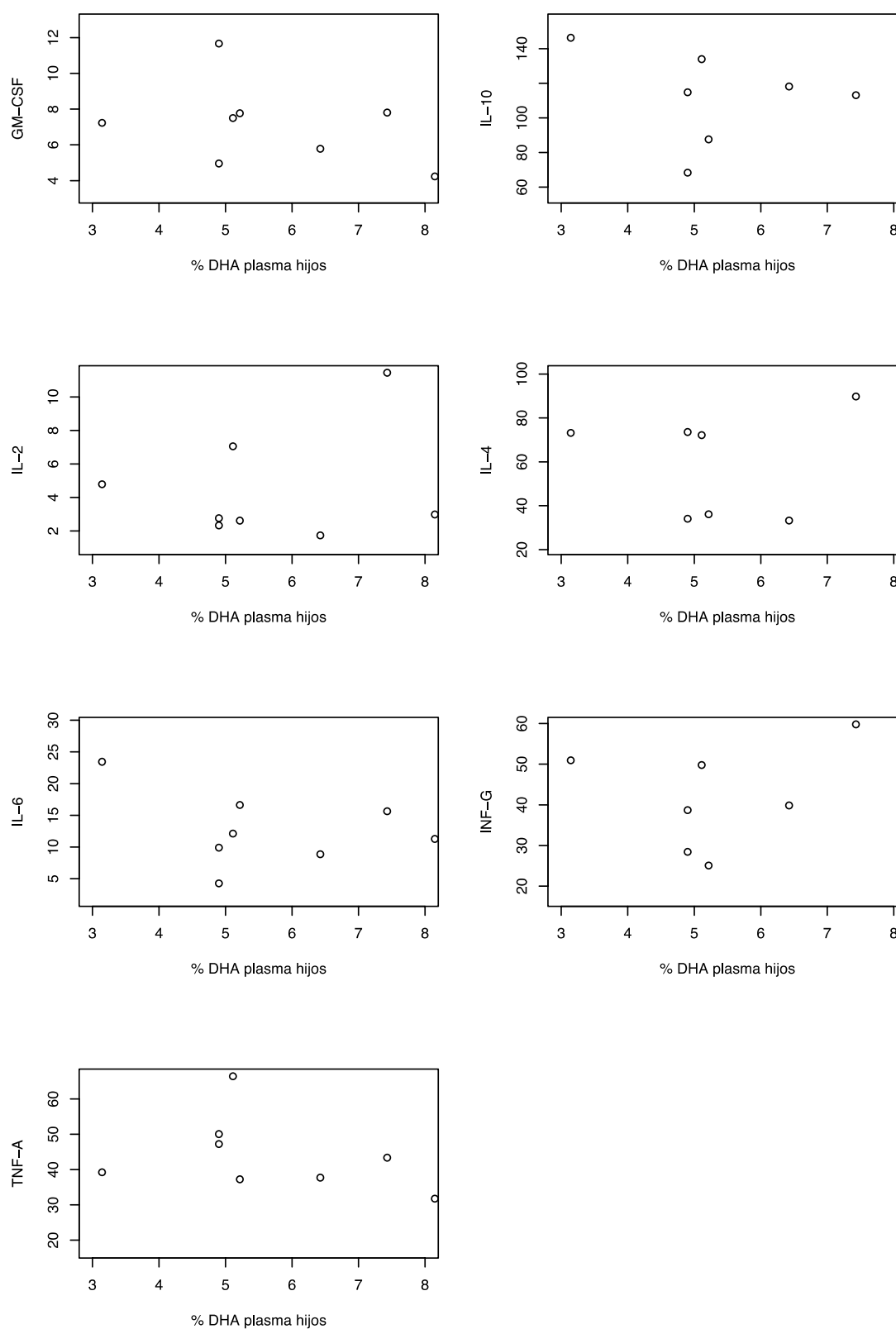


Figura 25. Asociación entre el DHA en plasma de hijo con las citoquinas a los 2,5 meses de vida.

Tabla 21. Correlación Spearman entre el DHA en eritrocitos y citoquinas de hijos.

Citoquina	Nacimiento		2.5 m de vida	
	Rho	P-valor	Rho	P-valor
GM-CSF	-0.559	0.0045	0.1501	0.4626
IL-10	0.0139	0.9485	0.4031	0.0411
IL-2	-0.3559	0.2327	0.2541	0.2203
IL-4	-0.1640	0.4659	-0.1019	0.6203
IL-6	0.0544	0.8008	0.1556	0.4477
INF- γ	-0.1997	0.3494	0.3457	0.0837
TNF- α	0.1018	0.6361	-0.2800	0.1655

Rho = Coeficiente de correlación de Spearman; P H₀: No hay correlación

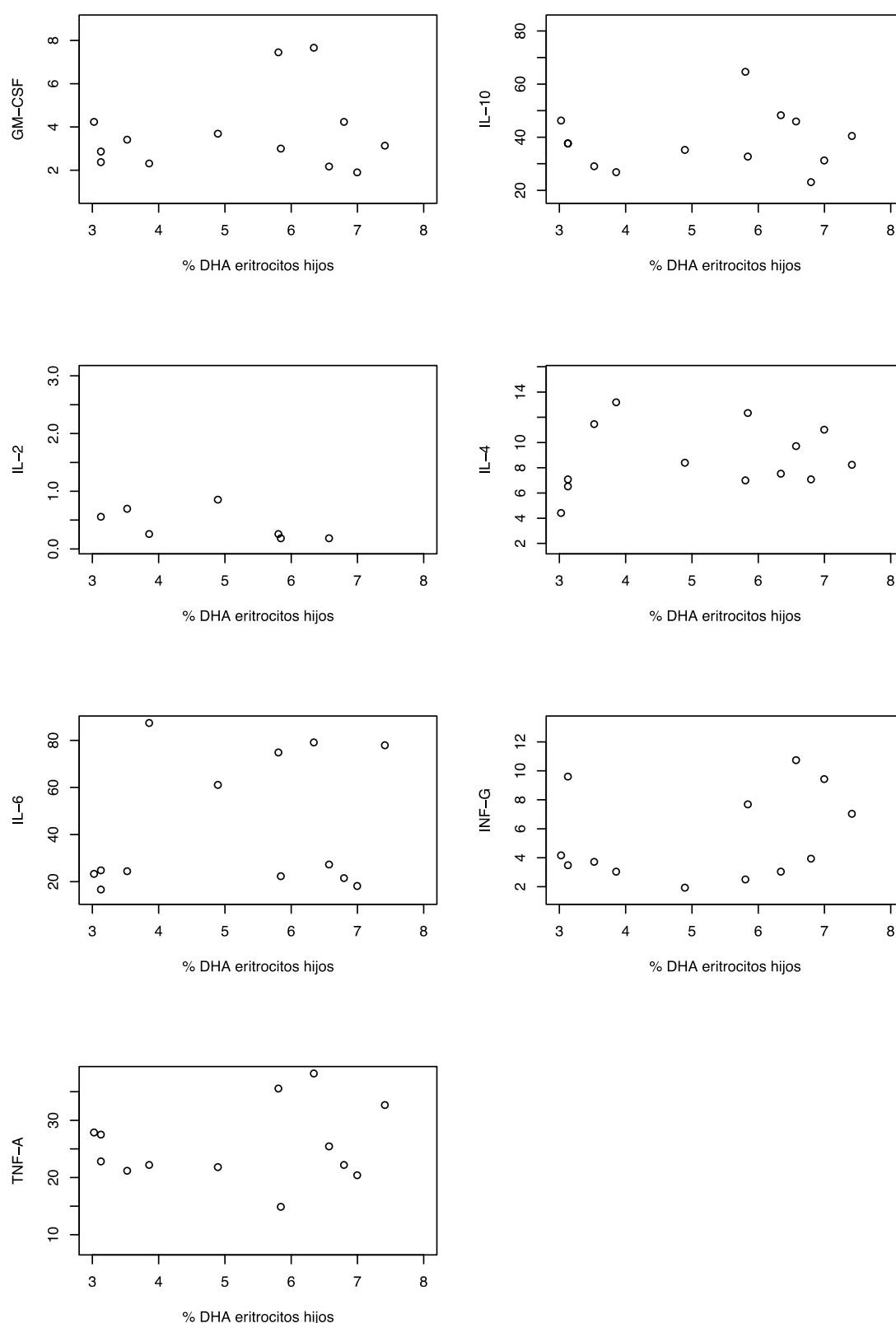


Figura 26. Correlación entre el DHA en eritrocitos de hijo con las citoquinas en el momento del parto.

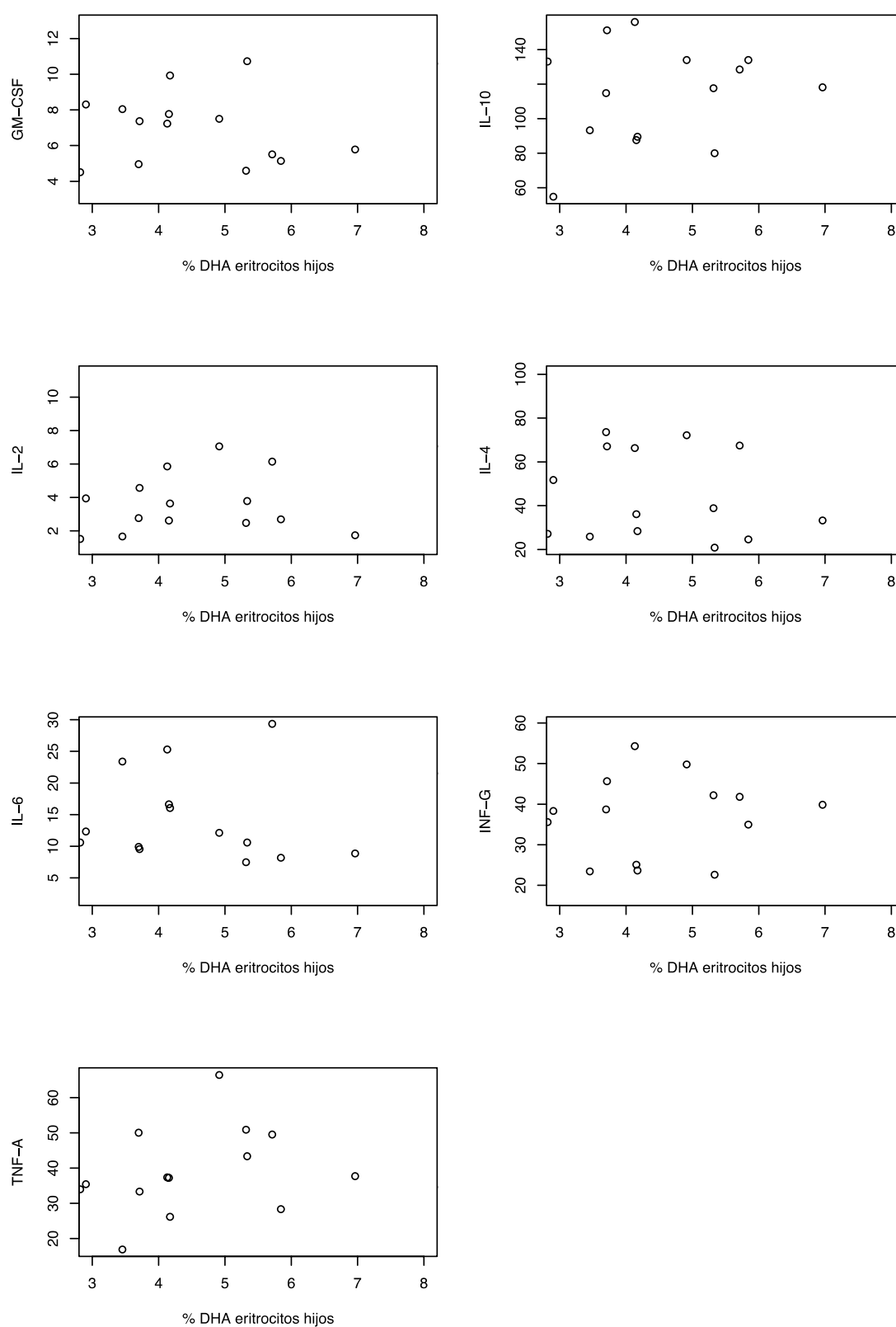


Figura 27. Correlación entre el DHA en eritrocitos de hijo con las citoquinas a los 2,5 meses de vida.

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

Este estudio ha pretendido evaluar el efecto que tiene suplementar la dieta materna con ácidos grasos de cadena larga omega-3 (320 mg/día de DHA+72 mg/día de EPA) durante el último trimestre de gestación y el periodo de la lactancia sobre el patrón de ácidos grasos del recién nacido, la madre y la leche materna y sobre la señalización inflamatoria, midiendo la concentración de citoquinas pro y antiinflamatorias en el plasma tanto de la madre como de sus hijos.

6.1. Efecto de la suplementación con DHA sobre el perfil lipídico.

La suplementación materna con ácidos grasos de cadena larga omega-3 durante la gestación influye en el patrón de ácidos grasos del plasma materno y de cordón umbilical como ya ha sido demostrado previamente (164;165). Un metaanálisis de estudios de intervención concluye que tanto el plasma como los eritrocitos son buenos marcadores para valorar el estatus de DHA en humanos teniendo especial relevancia en algunos subgrupos de la población (166).

Suplementos de DHA de 0,5 gramos al día, cifras próximas a los 320 mg de DHA utilizados en nuestro ensayo, desde la semana 22 de gestación hasta el parto han producido un aumento del porcentaje de DHA entre el total de ácidos grasos en plasma materno y de cordón umbilical en la semana 30 de gestación y en el parto (167). Estudios como el de Helland y colaboradores (2006) (168) no sólo han demostrado que la suplementación materna con AGPI-CL omega-3 durante la gestación aumenta la cantidad de DHA en el plasma de la madre, en el plasma de cordón umbilical y también en la leche materna, sino que también han puesto de manifiesto que continuar dicha suplementación durante la lactancia hace que el patrón de ácidos grasos también se vea modificado en el plasma de los hijos hasta los 3 meses de vida. Tan importante es prolongar dicha suplementación como prever este aporte. Así en el estudio llevado a cabo en 1995 por Monique D. Al y colaboradores (169) ya se sugería que el estatus

preconcepcional de ácidos grasos influía sobre el estatus de ácidos grasos del neonato, demostrando que una intervención temprana modificaba de forma más eficiente el patrón de ácidos grasos del neonato que después del desarrollo completo de la placenta.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo van en la línea de lo publicado. La suplementación con un producto lácteo enriquecido con aceite de pescado desde el último trimestre de la gestación aumenta la concentración de ácidos grasos de cadena larga omega-3 como el EPA, el DPA y el DHA, y la concentración de ácido nervónico en el plasma y la membrana de los eritrocitos. Las diferencias halladas entre grupos no son significativas en el momento del parto, salvo para el EPA en las muestras de plasma de los hijos. Parece que existe una relación dosis dependiente ya que a partir de los 5 meses del inicio de la intervención dietética sí se detectan diferencias estadísticamente significativas entre el grupo suplementado y control para los niveles de ácidos grasos omega-3. Los estudios de cinética de incorporación de los ácidos grasos a los fosfolípidos del plasma y eritrocitos ponen de manifiesto un rápido aumento de DHA en plasma, que es dosis dependiente, con una concentración estable al mes de iniciada la suplementación (20). El DHA de los eritrocitos sigue un patrón similar pero alcanza su equilibrio a los 4-6 meses (112;170). En nuestro estudio hemos encontrado que a los 2,5 y 4 meses tras el parto, la concentración de DHA es significativamente mayor tanto en el plasma como en la membrana de los eritrocitos de las madres e hijos del grupo suplementado. La explicación a que no encontremos altas concentraciones de DHA en las madres previamente puede explicarse por el descenso fisiológico que sufren los niveles de DHA durante la gestación, como ya es conocido (23), y que también observamos en nuestro ensayo. En el momento del parto, la concentración de DHA en los compartimentos maternos de ambos grupos, membrana de los eritrocitos y plasma, es menor que la concentración con la que partían nuestras voluntarias en la semana 28 de gestación aunque ese descenso es más leve en el grupo DHA. Sin embargo, la concentración de DHA en la membrana de los eritrocitos de los hijos del grupo suplementado es significativamente mayor en el momento del parto que en el grupo control, lo que reflejaría la mayor transferencia de estos ácidos grasos de la madre al feto en la última etapa del embarazo (171) y podría explicar estos hallazgos. No obstante, se objetiva una recuperación en los meses posteriores en los compartimentos

maternos con una ventaja para el grupo suplementado ya que los niveles de DHA son significativamente menores en el grupo control. Otros estudios de suplementación sí han observado aumentos significativos de la concentración de DHA en el momento del parto (167;168). Las diferencias con el nuestro pueden estar en el tamaño muestral o la dosis utilizada ya que aunque nuestras concentraciones de DHA no son significativamente mayores en los compartimentos maternos en el momento del parto, sí que se observa una tendencia al alza en las madres del grupo suplementado. Por otra parte, en nuestro estudio dimos unas recomendaciones dietéticas a las madres para que siguieran una dieta tipo Mediterráneo con ingesta frecuente de pescado, lo que también podría haber minimizado algunas diferencias entre los grupos.

La suplementación con DHA no modifica los niveles de ácido araquidónico (ARA) en el plasma materno y la membrana de los eritrocitos de madres e hijos. Sin embargo, cabe destacar que las concentraciones observadas en nuestros participantes siempre son mayores en el grupo control. En el plasma de los hijos en el momento del parto sí se objetivan niveles significativamente menores de ARA en el grupo suplementado. Este resultado va acorde con lo objetivado en otros trabajos (104;112), concluyendo que la suplementación con más de 200 mg/día (46) de DHA puede reducir los niveles de ARA en el feto. En la leche materna también observamos que se modifican los niveles de ARA al mes post-parto, siendo menores las concentraciones en el grupo suplementado. Otros estudios como el de Imhoff-Kunsch y colaboradores (2011) (172) suplementando con una dosis similar de DHA a la que nosotros hemos empleado y el mismo periodo, no han encontrado diferencias entre grupos para la concentración de ARA en la leche materna. Sin embargo, al igual que nuestro equipo objetivan mayores concentraciones de DHA en la leche materna en el primer mes post-parto.

Las concentraciones de DHA de nuestro grupo de madres suplementadas son mayores tanto en la leche de transición como en la leche madura (a los 4 meses post-parto). Marc y colaboradores (2011) (173) en su estudio con recién nacidos prematuros, no sólo objetivan este hecho sino que además de encontrar mayor concentración de DHA en la leche materna de las madres suplementadas, también objetivan mayores

concentraciones de DHA en el plasma de las madres y de sus hijos. Varios son los estudios (172-175) que objetivan este hecho, al igual que nuestro trabajo. Estos datos apoyan que el estatus materno de DHA y el contenido del mismo en la leche materna dependen de su ingesta a través de la dieta y como ya se sabe, influye en el status de DHA del feto y del recién nacido tan importante para su desarrollo (111;176).

El ARA y el DHA como ya hemos comentado pueden formarse a partir de elongasas y desaturasas a partir de sus precursores. Sin embargo, en el feto la desaturación enzimática no es capaz de suplir las cantidades suficientes de AGPI-CL hasta, como mínimo, las 16 semanas después del nacimiento. Durante el embarazo el DHA y el ARA son transportados a través de la placenta a la sangre venosa del feto. Posteriormente, el recién nacido los obtiene de la leche materna que también contiene DHA y ARA y que como ya hemos visto, también es una vía de transferencia de estos ácidos grasos hacia el recién nacido. Sin embargo, la concentración de los mismos viene determinada por la ingesta dietética de la madre de estos ácidos grasos (168). En nuestro ensayo, los datos obtenidos reflejan este hecho. El plasma y la membrana de los eritrocitos de los hijos de madres suplementadas tienen concentraciones de DHA significativamente mayores que los del grupo control. Lo mismo ocurre con otros ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 y aunque las diferencias no son significativas para todos ellos, sí hay que señalar que sus concentraciones son mayores en el grupo DHA. Por el contrario, las concentraciones del ARA son mayores en el grupo control. Cabe destacar también que las concentraciones del ácido nervónico, importante en el desarrollo del recién nacido (177;178), son significativamente mayores en el plasma de los niños del grupo suplementado a los dos meses y medio de vida pero los datos para poder establecer una interacción entre el DHA y este ácido graso no son concluyentes. Algunos estudios (168) han sugerido que puede existir una ingesta saturada de DHA con ingestas de 0,5-1 gramo/día. Lo cual explicaría por qué superada una cantidad de DHA no se ve afectada la concentración de DHA de los fosfolípidos plasmáticos. En el estudio de Helland y colaboradores (2006) (168) se observó que cuando la concentración de DHA en la leche materna estaba por encima del 0,8% del total de ácidos grasos, no se producía un incremento adicional del DHA del plasma de los niños. En nuestro estudio, la suplementación extra de DHA ha sido de 320 mg al día,

con lo que no hemos objetivado este hecho en el análisis de nuestros resultados. Llama la atención que cuanto más tiempo de suplementación, mayor diferencia estadística en las concentraciones de los AGPI-CL omega-3 entre grupos.

Atendiendo a nuestros resultados, podemos concluir que suplementar la dieta de las madres con DHA durante etapas tan importantes como la gestación y la lactancia, va a influir en el patrón de ácidos grasos no sólo de la madre sino también, del feto y del recién nacido. La importancia clínica de estos resultados se basa en los efectos beneficiosos que el aceite de pescado tiene sobre algunos aspectos del desarrollo del recién nacido y sobre algunos procesos patológicos tanto en la madre como en el niño. Los niveles de ácidos grasos en sangre materna durante la gestación se han asociado a menor riesgo de parto prematuro antes de las 34 S.E.G e incluso la dieta insuficiente en AGPI-CL omega-3 se ha considerado como factor de riesgo de parto pretérmino. Además la suplementación con AGPI-CL omega-3 se ha considerado como posible estrategia para la prevención de la preeclampsia por sus efectos sobre la inflamación aunque diversos metaanálisis no han podido aportar datos concluyentes (179). En el niño, el papel de los ácidos grasos de cadena larga sobre el desarrollo neurológico es bien conocido (47;49-52) y aunque existe cierta controversia parece que existen efectos positivos sobre el desarrollo cognitivo y visual que deben seguir siendo investigados (179). También ha sido estudiado el papel de los ácidos grasos omega-3 en la dermatitis atópica demostrándose en varios estudios que niveles bajos de estos ácidos grasos parecen relacionarse con la enfermedad (180;181). Destaca por una hipotética consecuencia de nuestros resultados, el estudio de R. Montes y colaboradores (2013) donde se ha demostrado que las madres cuyos niños desarrollaron dermatitis atópica en el primer año y medio de vida tenían niveles más bajos de AGPI-CL omega-3 en el plasma durante la gestación. En este mismo trabajo también se observó que los niveles de AGPI-CL omega-3 en sangre de cordón umbilical de niños sanos eran mayores que en los niños que desarrollaron dermatitis, por lo que se sugiere un papel protector de estos ácidos grasos para el desarrollo de esta patología (182;183). Los mecanismos propuestos para explicar este efecto protector de los AGPI-CL omega-3 en los procesos atópicos han sido por un lado, la competencia existente entre los ácidos grasos omega-6 y omega-3 como sustrato para la formación de eicosanoides ya que los derivados de los

ácidos grasos omega-3 son menos inflamatorios; la producción de mediadores lipídicos como las resolvinas que ejercen un papel antiinflamatorio (117) y por otro lado, la influencia sobre los niveles de citoquinas implicadas en la atopia (184). La mayoría de los estudios se han centrado en la relación que puede existir entre los ácidos grasos omega-3 y la atopia (180;182;185-188). Sí se ha estudiado el efecto que tiene suplementar las fórmulas infantiles con DHA y ARA sobre el desarrollo de enfermedades respiratorias y digestivas (189) pero no exclusivamente con suplementación de aceite de pescado. Sin embargo, encontramos un estudio de suplementación similar a nuestro ensayo que valora el efecto de suplementar a la mujer embarazada con 400 mg al día de DHA desde la semana 22 de gestación hasta el parto sobre la morbilidad del niño durante los primeros 6 meses de vida. Los resultados sugieren un efecto beneficioso respecto a menor número de catarros en el primer mes de vida y menor duración de los síntomas catarrales al mes, a los 3 y 6 meses de vida (190). En nuestro proyecto no hemos valorado la relevancia clínica de los cambios en el perfil lipídico tanto materno como de los hijos y a pesar de los datos beneficiosos sugeridos en los estudios existentes hay pocos datos concluyentes en cuanto al efecto de esta intervención dietética sobre la morbilidad infantil, por lo que son necesarios más estudios que pongan de manifiesto si estas diferencias observadas tienen algún efecto clínico sobre las madres o sobre el desarrollo de los niños.

6.2. Efecto del DHA sobre los valores somatométricos del recién nacido.

Esta intervención dietética tiene un gran interés, como demuestran diversos estudios que ponen de manifiesto que la ingesta materna de ácidos grasos de cadena larga omega-3 repercute en algunos aspectos perinatales, como la duración del embarazo (191-193) y el peso al nacer (194;195). Trabajos como el de Carlson y colaboradores (2013) (196) no solo demuestran que la suplementación con 600 mg/día de DHA se asocia a un aumento del DHA de los fosfolípidos de las membranas de eritrocitos de sangre materna y cordón umbilical sino que también se asocia a mayor duración de la gestación, mayor peso (197), talla y perímetro craneal (198) al nacimiento de los niños pertenecientes al grupo suplementado. Sin embargo, nuestro

estudio, al igual que el publicado previamente por Miles y colaboradores (2011) (160), no encuentra diferencias entre grupos, ni en el peso al nacimiento, talla, perímetro craneal ni otros aspectos relacionados con el embarazo y periodo perinatal. Destacan otros dos ensayos clínicos realizados en México (199) y Australia (200) que suplementaron a mujeres gestantes con 400 mg y 800 mg al día de DHA respectivamente, durante la segunda mitad de la gestación. El primero de ellos no encontró diferencias en cuanto a la duración del embarazo y tampoco en el peso, talla y perímetro craneal del recién nacido. Mientras que el segundo, sí encontró aumento de un día en la duración de la gestación y mayor aumento de peso de los niños del grupo suplementado.

En nuestro trabajo también analizamos las variaciones de peso, talla y perímetro craneal a lo largo del primer año de vida, siendo las curvas de crecimiento similares en ambos grupos sin encontrar diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias de nuestros hallazgos con los publicados podrían deberse al tamaño muestral, características de la muestra estudiada y dosis de DHA administrada. En todo caso, sí que se puede concluir que la intervención dietética propuesta en nuestro estudio no tiene efectos perjudiciales ni en la duración de la gestación ni tampoco en el peso, talla y perímetro craneal de los recién nacidos.

6.3. Efecto del DHA sobre la secreción de citoquinas inflamatorias.

El interés por el estatus del DHA del feto y recién nacido se fundamenta en los efectos beneficiosos demostrados que tiene sobre el desarrollo fetal y embrionario (201). Además, es conocido que el DHA tiene efectos antiinflamatorios y que puede modular la producción de citoquinas inflamatorias tanto en modelos animales, como en cultivos celulares y en estudios en humanos (93;148;202-209).

El ratio omega-6/omega-3 afecta a la respuesta de los tejidos a la inflamación, a la agregación plaquetar, a la respuesta de los tejidos a la hipoxia, a la reperusión, a la respuesta inmune y a otros procesos en los que participan los eicosanoides y

docosanoides. Los prostanoides derivados del EPA y DHA disminuyen el daño tisular y promueven la recuperación de los tejidos controlando importantes funciones que afectan a la salud neonatal como es la recuperación de lesiones hipóxicas o inflamatorias (201). No todos los estudios han demostrado reducción de marcadores inflamatorios por los AGPI-CL omega-3. Destaca un estudio realizado en niños de 8 a 12 años que fueron suplementados con ácidos grasos de cadena larga omega-3 durante 3 meses registrándose mayor aumento tanto de citoquinas antiinflamatorias (IL-10, IL-1RA) como proinflamatorias (TNF- α , IL-6) en el grupo suplementado aunque las dosis de suplementación administradas en este caso fueron bajas, 180 mg de EPA más 120 mg de DHA/día, lo cual podría explicar la ausencia de efecto (210). En este sentido ya se sugería en la revisión realizada por Calder en el año 2001 (211) que dosis inferiores a 1 gramo/día de EPA más DHA no reportan efectos de estos ácidos grasos en el proceso inflamatorio. En cualquier caso se demostró que los ácidos grasos de cadena larga omega-3 pueden estimular la producción de citoquinas y este hecho se puede interpretar como mayor estimulación de las células inmunes. Por tanto, mejor respuesta clínica en condiciones inflamatorias. Además el ratio IL-1 β /IL-1RA fue menor en el grupo suplementado que se puede traducir en un aumento relativo en la respuesta inflamatoria respecto a los controles y atenuación de la respuesta inflamatoria (210).

En nuestro ensayo hemos querido valorar el efecto sobre la señalización inflamatoria de la suplementación con AGPI-CL omega-3 en mujeres gestantes, a partir del sexto mes de gestación y posteriormente en el periodo de la lactancia. Estudios como el de García-Rodríguez y colaboradores (2012) (143) no demuestran que una ingesta aumentada de salmón durante el embarazo mitigue el aumento de biomarcadores inflamatorios como la IL-8, el factor de crecimiento de los hepatocitos y la proteína quimiotáctica de monocitos además de otros biomarcadores vasculares que se producen durante el embarazo. Sin embargo, nuestros resultados ponen de manifiesto que suplementar la dieta con este ácido graso puede influir en los niveles de determinadas citoquinas mediadoras de los procesos inflamatorios. Algunas de las citoquinas inmunosupresoras analizadas, como la IL-4, se encuentran en mayor concentración en el plasma de las madres que recibieron suplementos de DHA-EPA a partir del sexto mes de gestación. Mientras que las concentraciones de citoquinas proinflamatorias, como la

IL-6 y el TNF- α son mayores en el grupo control, tanto en el plasma materno como en el de sus hijos. Si bien es verdad, que no hemos podido obtener datos concluyentes, nuestros resultados no discrepan con lo publicado hasta el momento en otros campos. Wachtler y colaboradores (1997) (209) demostraron que suplementando la nutrición parenteral de pacientes post-operados de cirugía abdominal con aceite de pescado, se reducía la concentración plasmática de TNF- α e IL-6. Previamente, Meydani y colaboradores (1991, 1993) (206;208) llegaron a las mismas conclusiones en pacientes que consumían diariamente aceites ricos en DHA y EPA, demostrando no sólo el descenso en la producción de TNF- α e IL6, sino también de la IL-1. Estos resultados coinciden con los estudios llevados a cabo por Endres y colaboradores (1989) (205), Gallai y colaboradores (1995) (207) y Caughey y colaboradores (1996) (148) donde la suplementación diaria con DHA y EPA produce una disminución de la producción de estas citoquinas. En el estudio publicado en 1994 por U. N. Das (212) se demuestra que el DHA es capaz de inhibir la producción de TNF- α en pacientes con lupus eritematoso sistémico. En la misma línea, Neus Martínez-Micaelo y colaboradores (2012) (213) ponen de manifiesto mediante estudios in vitro que el tratamiento previo de macrófagos con cualquier combinación de DHA y procianidinas inhibe la producción de IL-6 traduciéndose en un descenso significativo de sus niveles. También en sujetos sanos se ha visto una reducción en la síntesis de citoquinas, en este caso de IL-2 e IL-1, tras la suplementación con AGPI-CL omega-3 durante 6 semanas como se evidencia en el estudio llevado a cabo por Stefan Endres y colaboradores (1993) (214). En estos estudios se han administrado suplementos de DHA y EPA y los resultados van en la misma línea de los obtenidos en nuestro ensayo. El embarazo ha sido considerado un estado de inflamación sistémica leve y controlada en la que se ha demostrado aumento de leucocitos, aumento en la actividad fagocítica y aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-6, la IL-12 y el TNF- α . En condiciones normales esta producción está controlada pero en patologías como la preeclampsia ocurre un desbalance, aumentando los niveles de IL-8, INF- γ y activación de células T con aumento de citoquinas Th1 como el TNF- α (215). En embarazos normales también tienen lugar importantes cambios en el metabolismo de los lípidos y carbohidratos y en las funciones vasculares. El papel que estas citoquinas y otros biomarcadores de la homeostasis vascular tienen en la gestación está aún por completar (143). En este

sentido se nos plantean nuevas vías de investigación ya que en nuestro proyecto no hemos analizado el efecto clínico de los resultados encontrados en cuanto a la tendencia a la baja del TNF- α en el plasma materno del grupo suplementado y menores niveles significativos de IL-6 respecto al control. Son necesarios futuros estudios en esta línea que nos ayuden a revelar si estos cambios tienen algún sentido en ese estado de inflamación sistémica controlada observado en los embarazos normales.

En una parte del proyecto OmegAD (216) realizado en pacientes con Enfermedad de Alzheimer, también se observa que la suplementación dietética con DHA durante 6 meses produce efectos claros sobre la secreción de citoquinas por monocitos de sangre periférica tras ser estimulados con lipopolisacáridos. Tras la suplementación se registra una disminución significativa de la secreción de IL-1, IL-6 y G-CSF, mientras que la secreción de TNF- α , IL-8, IL-10 y GM-CSF no es significativamente inferior. En nuestro estudio, sí hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas para las concentraciones de TNF- α e IL-10 entre el grupo DHA y control en algunas de las fases estudiadas. De esta forma, el TNF- α se ha encontrado en mayor concentración en el plasma de los hijos del grupo control, tanto en el momento del nacimiento como a los 2 meses y medio de vida. En el plasma materno el TNF- α también es mayor en el grupo control, pero en este caso no es significativamente inferior respecto al grupo DHA. Por su parte, la secreción de IL-10 es significativamente mayor en el plasma de las madres del grupo DHA en todas las fases de la intervención. En el caso del plasma de hijo, la concentración de IL-10 aumenta a lo largo de la intervención, siendo mayor en el grupo DHA, pero no de forma significativa. Clínicamente estos hallazgos se podrían traducir en un mayor “ambiente” antiinflamatorio proporcionado por los ácidos grasos de cadena larga omega-3, ya que el TNF- α y la IL-6 son proinflamatorias y la IL-10 es supresora, capaz de inhibir a otras citoquinas proinflamatorias. La IL-10 ha sido considerada como el mayor regulador de células T y podría actuar como mediadora de los efectos antiinflamatorios de los AGPI-CL omega-3 (217).

Respecto al análisis de las posibles asociaciones entre el DHA y las citoquinas, los resultados más llamativos se encuentran en relación al DHA acumulado en el plasma

y la membrana de los eritrocitos materno. Objetivamos que la concentración de DHA en el plasma de la madre parece influir sobre la concentración de IL-6. A los 5 meses y medio tras el inicio de la intervención dietética, la concentración de DHA plasmática se relaciona de forma negativa con los niveles de IL-6. Por tanto, mayor concentración de DHA en el plasma materno se asocia a menores niveles de IL-6. Estos hallazgos van en la línea de los obtenidos en el estudio OmegAD (216) donde se ha sugerido además de la reducción de la IL-6, que algunas citoquinas pueden sufrir cambios simultáneos por la acción del DHA y donde se pone de manifiesto la relación existente entre las concentraciones de DHA en plasma y la secreción de IL-1 β e IL-6 en el grupo suplementado. De este modo, a mayor concentración de DHA, menor secreción de dichas citoquinas. Hallazgos que coinciden con nuestros resultados aunque en nuestro caso no hemos analizado la concentración de la IL-1 β . Además en el estudio OmegAD se objetiva que la reducción en la secreción de IL-6 se asocia a menor concentración de IL-10. En nuestro estudio no hemos analizado las posibles correlaciones existentes entre citoquinas pero sí hemos observado resultados compatibles ya que en el plasma de las madres suplementadas encontramos concentraciones mayores de IL-10 y menores de IL-6 de forma simultánea. Estos cambios en paralelo sugieren que el DHA puede influir sobre mecanismos comunes de producción de estas citoquinas (216).

En nuestro estudio no sólo analizamos si existe relación entre la concentración plasmática de DHA y las citoquinas, sino que hemos estudiado las posibles correlaciones entre éstas y el DHA acumulado en las diferentes muestras obtenidas (plasma de hijo, leche materna y membrana de eritrocitos). Sólo encontramos correlación entre el DHA acumulado en la membrana de los eritrocitos y algunas citoquinas. En este sentido, el DHA de la membrana de los eritrocitos materno se correlaciona con el GM-CSF en el momento del parto y a los dos meses y medio del mismo. De forma que mayor concentración de DHA en este tejido coincide con mayores niveles de esta citoquina proinflamatoria (218) en el plasma de la madre. Sin embargo, en la membrana de los eritrocitos de los hijos se objetiva correlación positiva con la IL-10 a los 2 meses y medio de vida. Mayor concentración de DHA se traduce en mayor concentración de IL-10. Esto supondría mayor defensa antiinflamatoria ya que destaca por ser la citoquina inmunosupresora por excelencia (219;220), capaz de inhibir

a otras citoquinas proinflamatorias. Son necesarios futuros estudios para poder aclarar este resultado y concluir si el DHA mediante diversos mecanismos es capaz de influir tanto sobre citoquinas proinflamatorias como antiinflamatorias como se sugiere en otro estudio (216). Las diferencias de nuestro estudio con otros publicados en la misma línea pueden deberse al tamaño muestral, características de los sujetos participantes en el estudio o la dosis diaria de suplemento de aceite de pescado administrada. No obstante, otros estudios que comparten un objetivo similar al nuestro, no han logrado encontrar correlación entre el DHA y diferentes citoquinas. Es el ejemplo del estudio realizado por Joanna S. Hawkes y colaboradores (2002) (221) en el que suplementando mujeres en etapa de lactancia con una mezcla de 600 mg de DHA más 140 mg de EPA diarios durante 4 semanas, consiguen aumento de las concentraciones de AGPI-CL en células relevantes. El contenido de DHA aumenta de forma dosis-dependiente en plasma y leche materna, lo que pone de manifiesto el beneficio de esta intervención dietética. Sin embargo, no encuentran diferencias significativas entre grupos en la producción de citoquinas tanto en células de leche materna como en sangre periférica. Tampoco se encontró correlación entre la concentración de ácidos grasos de cadena larga omega-3 y producción de citoquinas (221). En nuestro estudio, hemos encontrado que la concentración de algunas citoquinas proinflamatorias es menor en el grupo suplementado en algunas fases del estudio, lo cual, apoya que existe un efecto antiinflamatorio potencial del DHA. Sin embargo, poco se sabe sobre los mecanismos que median este efecto.

En nuestro estudio no hemos analizado el efecto clínico que pueden tener estos cambios en la producción de citoquinas. Sin embargo hay estudios previos de suplementación con ácidos grasos de cadena larga omega-3 durante la gestación que sí han intentado valorarlo. Warstedt y colaboradores (2009) (222) sugieren que los menores niveles de PGE2 materno después de la suplementación con AGPI-CL omega-3 podrían contribuir a un sistema inmune fetal menos propenso al desarrollo de enfermedades inflamatorias como la alergia ya que los eicosanoides, citoquinas y quimoquinas están estrechamente relacionados en la respuesta inmune. En nuestro ensayo clínico hemos medido la concentración de citoquinas en condiciones basales a diferencia de otros que lo han hecho tras estímulos como fitohemaglutinina, una lectina

que estimula la proliferación de células T, o alérgenos buscando una posible relación con la atopía (217;223). En el estudio realizado por Noakes y colaboradores en 2012 (217) se ha demostrado que el aumento de la ingesta de salmón durante el embarazo aumenta la concentración de ácidos grasos omega-3 en plasma de cordón umbilical y afecta a la producción de citoquinas en neonatos, observando menor concentración de IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 y TNF- α en respuesta a diversos estímulos. Dunstan y colaboradores en 2003 (223) también objetivaron menor producción in vitro de IL-10 tras estimulación a alérgenos del gato en población atópica. Una de las explicaciones a este resultado viene dada por la influencia que los AGPI-CL omega-3 tienen sobre la producción de mediadores lipídicos. El aumento de DHA y EPA en la madre y niño conllevó menores niveles de PGE2, eicosanoide proinflamatorio e inductor de la producción de IL-10, por lo que este hecho parece ser una de las causas de la menor producción de esta citoquina. A pesar de estos resultados no está claro si este efecto puede influir o no en el desarrollo de atopía aunque los resultados parecen prometedores (179). Los niveles de IL-10 en nuestro estudio fueron mayores en el grupo suplementado. Las diferencias probablemente se deban al diseño de los estudios, a la dosis de AGPI-CL omega-3 empleada y a las características de la población participante en el estudio.

Nuestros resultados sugieren una acción potencial de los AGPI-CL omega-3 como modificadores de la secreción de citoquinas y aunque no hemos medido la consecuencia de estos cambios, diversos estudios han valorado el efecto clínico que puede tener este hecho. A pesar de los datos publicados, aún existe controversia y muchas hipótesis por desarrollar. Son necesarios futuros estudios que nos ayuden a establecer si el DHA contenido en diferentes tejidos puede influir y de qué manera en la producción de citoquinas inflamatorias y el significado clínico que estas modificaciones pueden tener en estas etapas de la vida.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

7.1. La administración de un suplemento con DHA a la mujer embarazada durante el tercer trimestre de gestación y el periodo de lactancia puede influir sobre la producción de citoquinas, aumentando las antiinflamatorias y disminuyendo las proinflamatorias.

- La secreción de las citoquinas inmunosupresoras, IL-10 e IL-4, es mayor en las madres que son suplementadas con DHA desde el sexto mes de gestación hasta el final de la lactancia materna.
- La secreción de la citoquina proinflamatoria, IL-6 es mayor en las madres del grupo no suplementado en el momento del parto.
- La secreción de IL-6 en el momento del nacimiento es menor en los hijos de madres que recibieron suplementos de DHA desde el sexto mes de gestación.
- La secreción de TNF- α , proinflamatoria, es menor en los hijos del grupo DHA, tanto al nacimiento como a los 2 meses y medio de vida mientras continúan con lactancia materna.

7.2. La concentración de DHA acumulado en los tejidos puede influir en la secreción de citoquinas inflamatorias.

- La concentración de DHA acumulado en el plasma materno tras cinco meses de suplemento se correlaciona de forma negativa con la secreción de IL-6. Por tanto, la secreción de IL-6 disminuye significativamente en el plasma materno a mayor concentración de DHA.
- La concentración de DHA acumulado en la membrana de eritrocitos de los hijos a los 2.5 meses de vida se correlaciona de forma positiva con los niveles de IL-10.

7.3. La administración de un suplemento con DHA a las mujeres embarazadas durante el tercer trimestre de gestación y periodo de lactancia incrementa los niveles de

ácidos grasos omega-3 en sangre y leche materna e incrementa el estatus de ácidos grasos omega-3 del recién nacido y niños amamantados.

7.4. La administración de un suplemento con DHA en forma de bebida láctea a la mujer durante el tercer trimestre de gestación y periodo de lactancia no produce efecto sobre la concentración de ácido araquidónico pero en su descendencia puede aumentar ligeramente la concentración de ácido nervónico.

En resumen, la administración de un suplemento con DHA y EPA a las embarazadas desde la semana 28 de gestación hasta el final de la lactancia, aumenta los niveles de ácidos grasos omega-3 tanto en la madre, en la leche materna como en el hijo e influye sobre la señalización inflamatoria dando lugar a un patrón de citoquinas más antiinflamatorio. Futuros estudios deben dilucidar si estos cambios en el patrón lipídico y en la producción de citoquinas se asocian a efectos clínicos en la madre y/o en el recién nacido.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Abedi E, Sahari MA. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Sci Nutr* 2014; 2:443-463.
2. Doughman SD, Krupanidhi S, Sanjeevi CB. Omega-3 fatty acids for nutrition and medicine: considering microalgae oil as a vegetarian source of EPA and DHA. *Curr Diabetes Rev* 2007; 3:198-203.
3. Williams CM, Burdge G. Long-chain n-3 PUFA: plant v. marine sources. *Proc Nutr Soc* 2006; 65:42-50.
4. Spector AA. Essentiality of fatty acids. *Lipids* 1999; 34 Suppl:S1-S3.
5. Rodrigo Valenzuela B, Gladys Tapia O. Ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Rev Chil Nutr* 2011; 38:365-367.
6. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA Journal* 2012; 10:2815-2863. doi:10.2903/j.efsa.2012.2815. Último acceso: junio 2015.
Disponible en: URL: <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/2815.pdf>.
7. Borges MC, Santos FM, Telles RW, Correia MI, Lanna CC. Polyunsaturated omega-3 fatty acids and systemic lupus erythematosus: what do we know?. *Rev Bras Reumatol* 2014; 54:459-466.
8. Seabert TA, Pal S, Pinet BM, Haman F, Robidoux MA, Imbeault P, et al. Elevated contaminants contrasted with potential benefits of omega-3 fatty acids in wild food consumers of two remote first nations communities in northern Ontario, Canada. *PLoS One* 2014; 9:e90351. doi: 10.1371/journal.pone.0090351.

9. Nostbakken OJ, Bredal IL, Olsvik PA, Huang TS, Torstensen BE. Effect of marine omega 3 fatty acids on methylmercury-induced toxicity in fish and mammalian cells in vitro. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012:417-652.
10. Myers GJ, Davidson PW, Shamlaye CF, Axtell CD, Cernichiari E, Choisy O, et al. Effects of prenatal methylmercury exposure from a high fish diet on developmental milestones in the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology* 1997; 18:819-829.
11. Davidson PW, Myers GJ, Cox C, Axtell C, Shamlaye C, Sloane-Reeves J, et al. Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles Child Development Study. *JAMA* 1998; 280:701-707.
12. Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K, et al. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* 1997; 19:417-428.
13. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Mundial de la Salud. Riesgos y Beneficios del Consumo de Pescado. Informe del grupo de expertos FAO/OMS. Ginebra, Suiza: 2011.
14. Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos. Declaración de los beneficios del consumo de pescado y marisco comparado con el riesgo de metilmercurio contenido en el pescado y marisco. Informe de un grupo científico de la EFSA. Parma, Italia: EFSA. *EFSA Journal* 2015; 13(1):3982-4018. doi:10.2903/j.efsa.2015.3982. Último acceso: junio 2015.
Disponible en: URL: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3265.pdf>.
15. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Mundial de la Salud. Dietary intake of inorganic mercury. Evaluation of certain food additives and contaminants. Informe del Grupo de Expertos en Aditivos Alimentarios. Italia: 2010. Serie Aditivos Alimentarios; 63.

16. Comisión técnica de contaminantes de la cadena alimentaria de la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA). Dictamen sobre el mercurio y el metilmercurio en los alimentos. Informe de un grupo científico de la EFSA. Italia: EFSA; 2004.
17. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Cadena Alimentaria. Gestión de riesgos químicos. Mercurio. Informe Técnico. España. Febrero 2015.
18. Kohler A, Sarkkinen E, Tapola N, Niskanen T, Bruheim I. Bioavailability of fatty acids from krill oil, krill meal and fish oil in healthy subjects-a randomized, single-dose, cross-over trial. *Lipids Health Dis* 2015; 14:19. doi: 10.1186/s12944-015-0015-4.
19. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Evaluación nutricional de la dieta española. Energía y macronutrientes. Sobre datos de la Encuesta Nacional de la Ingesta Dietética (ENIDE). 2014.
20. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1467S-1476S.
21. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA) and brain, eye and nerve development (ID 501, 513, 540), maintenance of normal brain function (ID 497, 501, 510, 513, 519, 521, 534, 540, 688, 1323, 1360, 4294), maintenance of normal vision (ID 508, 510, 513, 519, 529, 540, 688, 2905, 4294), maintenance of normal cardiac function (ID 510, 688, 1360), "maternal health; pregnancy and nursing" (ID 514), "to fulfil increased omega-3 fatty acids need during pregnancy" (ID 539), "skin and digestive tract epithelial cells maintenance" (ID 525), enhancement of mood (ID 536), "membranes cell structure" (ID 4295), "anti-inflammatory action" (ID 4688) and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 4719) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2011;9(4):2078-2108. doi:10.2903/j.efsa.2011.2078. Disponible en: URL: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2078.htm>.

22. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Mundial de la Salud. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Informe de un Grupo Científico de la FAO/OMS. Ginebra: OMS; 2010. FAO Food and Nutrition Paper No. 91
23. Larque E, Gil-Sanchez A, Prieto-Sanchez MT, Koletzko B. Omega 3 fatty acids, gestation and pregnancy outcomes. *Br J Nutr* 2012; 107:S77-S84.
24. Gorjao R, Azevedo-Martins AK, Rodrigues HG, Abdulkader F, Arcisio-Miranda M, Procopio J, et al. Comparative effects of DHA and EPA on cell function. *Pharmacol Ther* 2009; 122:56-64.
25. Onuki Y, Morishita M, Chiba Y, Tokiwa S, Takayama K. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid induce changes in the physical properties of a lipid bilayer model membrane. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2006; 54:68-71.
26. Ehringer W, Belcher D, Wassall SR, Stillwell W. A comparison of the effects of linolenic (18:3 omega 3) and docosahexaenoic (22:6 omega 3) acids on phospholipid bilayers. *Chem Phys Lipids* 1990; 54:79-88.
27. Gorjao R, Hirabara SM, de Lima TM, Cury-Boaventura MF, Curi R. Regulation of interleukin-2 signaling by fatty acids in human lymphocytes. *J Lipid Res* 2007; 48:2009-2019.
28. Verlengia R, Gorjao R, Kanunfre CC, Bordin S, Martins De LT, Martins EF, et al. Comparative effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on proliferation, cytokine production, and pleiotropic gene expression in Jurkat cells. *J Nutr Biochem* 2004; 15:657-665.
29. Holland D, Chang L, Ernst TM, Curran M, Buchthal SD, Alicata D, et al. Structural growth trajectories and rates of change in the first 3 months of infant brain development. *JAMA Neurol* 2014; 71:1266-1274.
30. Bradbury J. Docosahexaenoic acid (DHA): an ancient nutrient for the modern human brain. *Nutrients* 2011; 3:529-554.

31. Rogers LK, Valentine CJ, Keim SA. DHA supplementation: current implications in pregnancy and childhood. *Pharmacol Res* 2013; 70:13-19.
32. Velten M, Britt RD, Jr., Heyob KM, Tipple TE, Rogers LK. Maternal dietary docosahexaenoic acid supplementation attenuates fetal growth restriction and enhances pulmonary function in a newborn mouse model of perinatal inflammation. *J Nutr* 2014; 144:258-266.
33. Innis SM. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr* 2003; 143:S1-S8.
34. Diau GY, Hsieh AT, Sarkadi-Nagy EA, Wijendran V, Nathanielsz PW, Brenna JT. The influence of long chain polyunsaturate supplementation on docosahexaenoic acid and arachidonic acid in baboon neonate central nervous system. *BMC Med* 2005; 3:11.
35. Favreliere S, Barrier L, Durand G, Chalon S, Tallineau C. Chronic dietary n-3 polyunsaturated fatty acids deficiency affects the fatty acid composition of plasmamylethanolamine and phosphatidylethanolamine differently in rat frontal cortex, striatum, and cerebellum. *Lipids* 1998; 33:401-407.
36. Bourre JM, Pascal G, Durand G, Masson M, Dumont O, Piciotti M. Alterations in the fatty acid composition of rat brain cells (neurons, astrocytes, and oligodendrocytes) and of subcellular fractions (myelin and synaptosomes) induced by a diet devoid of n-3 fatty acids. *J Neurochem* 1984; 43:342-348.
37. Isaacs EB. Neuroimaging, a new tool for investigating the effects of early diet on cognitive and brain development. *Front Hum Neurosci* 2013; 7:445. doi: 10.3389/fnhum.2013.00445.
38. Meldrum SJ, D'Vaz N, Simmer K, Dunstan JA, Hird K, Prescott SL. Effects of high-dose fish oil supplementation during early infancy on neurodevelopment and language: a randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2012; 108:1443-1454.

39. Colombo J, Carlson SE, Cheatham CL, Shaddy DJ, Kerling EH, Thodosoff JM, et al. Long-term effects of LCPUFA supplementation on childhood cognitive outcomes. *Am J Clin Nutr* 2013; 98:403-412.
40. Drover J, Hoffman DR, Castaneda YS, Morale SE, Birch EE. Three randomized controlled trials of early long-chain polyunsaturated Fatty Acid supplementation on means-end problem solving in 9-month-olds. *Child Dev* 2009; 80:1376-1384.
41. Colombo J, Carlson SE, Cheatham CL, Fitzgerald-Gustafson KM, Kepler A, Doty T. Long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in infancy reduces heart rate and positively affects distribution of attention. *Pediatr Res* 2011; 70:406-410.
42. Drover JR, Hoffman DR, Castaneda YS, Morale SE, Garfield S, Wheaton DH, et al. Cognitive function in 18-month-old term infants of the DIAMOND study: a randomized, controlled clinical trial with multiple dietary levels of docosahexaenoic acid. *Early Hum Dev* 2011; 87:223-230.
43. Birch EE, Garfield S, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG. A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Dev Med Child Neurol* 2000; 42:174-181.
44. Decsi T, Koletzko B. N-3 fatty acids and pregnancy outcomes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005; 8:161-166.
45. Willatts P, Forsyth S, Agostoni C, Casaer P, Riva E, Boehm G. Effects of long-chain PUFA supplementation in infant formula on cognitive function in later childhood. *Am J Clin Nutr* 2013; 98:536S-542S.
46. Koletzko B, Lien E, Agostoni C, Bohles H, Campoy C, Cetin I, et al. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *J Perinat Med* 2008; 36:5-14.

47. Li D, Hu X. Fish and its multiple human health effects in times of threat to sustainability and affordability: are there alternatives? *Asia Pac J Clin Nutr* 2009; 18:553-563.
48. Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM, Wilson WM. Long-chain fatty acids and early visual and cognitive development of preterm infants. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48:S27-S30.
49. Yavin E, Himovichi E, Eilam R. Delayed cell migration in the developing rat brain following maternal omega 3 alpha linolenic acid dietary deficiency. *Neuroscience* 2009; 162:1011-1022.
50. Calderon F, Kim HY. Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *J Neurochem* 2004; 90:979-988.
51. Ahmad A, Moriguchi T, Salem N. Decrease in neuron size in docosahexaenoic acid-deficient brain. *Pediatr Neurol* 2002; 26:210-218.
52. Cao D, Kevala K, Kim J, Moon HS, Jun SB, Lovinger D, et al. Docosahexaenoic acid promotes hippocampal neuronal development and synaptic function. *J Neurochem* 2009; 111:510-521.
53. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 75:197-202.
54. Nosova EV, Conte MS, Grenon SM. Advancing beyond the "heart-healthy diet" for peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 2015; 61:265-274.
55. Carrero JJ, Grimble RF. Does nutrition have a role in peripheral vascular disease? *Br J Nutr* 2006; 95:217-229.
56. Deckelbaum RJ, Calder PC. Dietary n-3 and n-6 fatty acids: are there 'bad' polyunsaturated fatty acids? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13:123-124.
57. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. *Biochimie* 2009; 9:791-795.

58. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Willett WC, Rimm EB. Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. *Circulation* 2003; 108:155-160.
59. Vericel E, Colas R, Calzada C, Le QH, Feugier N, Cugnet C, et al. Moderate oral supplementation with docosahexaenoic acid improves platelet function and oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Thromb Haemost* 2015;114. PMID: 25832443.
60. Gil-Campos M, Dalmau SJ. Importance of docosahexaenoic acid (DHA): Functions and recommendations for its ingestion in infants. *An Pediatr (Barc)* 2010; 73:142-148.
61. Ochoa JJ, Ramirez-Tortosa MC, Quiles JL, Palomino N, Robles R, Mataix J, et al. Oxidative stress in erythrocytes from premature and full-term infants during their first 72 h of life. *Free Radic Res* 2003; 37:317-322.
62. Ochoa JJ, Contreras-Chova F, Munoz S, Araujo-Nepomuceno E, Bonillo A, Molina-Carballo A, et al. Fluidity and oxidative stress in erythrocytes from very low birth weight infants during their first 7 days of life. *Free Radic Res* 2007; 41:1035-1040.
63. Garrel C, Alessandri JM, Guesnet P, Al-Gubory KH. Omega-3 fatty acids enhance mitochondrial superoxide dismutase activity in rat organs during post-natal development. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44:123-131.
64. Garcia-Rodriguez CE, Mesa MD, Olza J, Vlachava M, Kremmyda LS, Diaper ND, et al. Does consumption of two portions of salmon per week enhance the antioxidant defense system in pregnant women? *Antioxid Redox Signal* 2012; 16:1401-1406.
65. Moghaddami M, James M, Proudman S, Cleland LG. Synovial fluid and plasma n3 long chain polyunsaturated fatty acids in patients with inflammatory arthritis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2015; 97:7-12.
66. McKarney C, Everard M, N'Diaye T. Omega-3 fatty acids (from fish oils) for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(4):CD002201.

67. Wang H, Khor TO, Saw CL, Lin W, Wu T, Huang Y, et al. Role of Nrf2 in suppressing LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages by polyunsaturated fatty acids docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. *Mol Pharm* 2010; 7:2185-2193.
68. Farinotti M, Vacchi L, Simi S, Di PC, Brait L, Filippini G. Dietary interventions for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;12:CD004192.
69. Farinotti M, Simi S, Di PC, McDowell N, Brait L, Lupo D, et al. Dietary interventions for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(1):CD004192.
70. Grimstad T, Berge RK, Bohov P, Skorve J, Goransson L, Omdal R, et al. Salmon diet in patients with active ulcerative colitis reduced the simple clinical colitis activity index and increased the anti-inflammatory fatty acid index--a pilot study. *Scand J Clin Lab Invest* 2011; 71:68-73.
71. Hartweg J, Perera R, Montori V, Dinneen S, Neil HA, Farmer A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(1):CD003205.
72. Ellulu MS, Khaza'ai H, Abed Y, Rahmat A, Ismail P, Ranneh Y. Role of fish oil in human health and possible mechanism to reduce the inflammation. *Inflammopharmacology* 2015; 23:79-89.
73. Carrero JJ, Martin-Bautista E, Baro L, Fonolla J, Jimenez J, Boza JJ, et al. [Cardiovascular effects of omega-3-fatty acids and alternatives to increase their intake]. *Nutr Hosp* 2005; 20:63-69.
74. Pirillo A, Catapano AL. Update on the management of severe hypertriglyceridemia--focus on free fatty acid forms of omega-3. *Drug Des Devel Ther* 2015; 9:2129-2137.
75. Harris WS, Dayspring TD, Moran TJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new developments and applications. *Postgrad Med* 2013; 125:100-113.

76. Weintraub H. Update on marine omega-3 fatty acids: management of dyslipidemia and current omega-3 treatment options. *Atherosclerosis* 2013; 230:381-389.
77. Weintraub HS. Overview of prescription omega-3 fatty acid products for hypertriglyceridemia. *Postgrad Med* 2014; 126:7-18.
78. Calder PC. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clin Sci (Lond)* 2004; 107:1-11.
79. Mocellin MC, Camargo CQ, Nunes EA, Fiates GM, Trindade EB. A systematic review and meta-analysis of the n-3 polyunsaturated fatty acids effects on inflammatory markers in colorectal cancer. *Clin Nutr* 2015; 29: 123-125.
80. de Aguiar Pastore SJ, Emilia de Souza FM, Waitzberg DL. Omega-3 supplements for patients in chemotherapy and/or radiotherapy: A systematic review. *Clin Nutr* 2015; 34:359-366.
81. Laviano A, Rianda S, Molfino A, Rossi FF. Omega-3 fatty acids in cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; 16:156-161.
82. Merendino N, Costantini L, Manzi L, Molinari R, D'Eliseo D, Velotti F. Dietary omega -3 polyunsaturated fatty acid DHA: a potential adjuvant in the treatment of cancer. *Biomed Res Int* 2013; 2013:310186. doi: 10.1155/2013/310186.
83. Jing K, Wu T, Lim K. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2013; 13:1162-1177.
84. Hurtado JA, Iznaola C, Pena M, Ruiz J, Pena-Quintana L, Kajarabille N, et al. Effects of Maternal Omega-3 Supplementation on Fatty Acids And on Visual and Cognitive Development: A Randomized Trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015. doi: 10.1097/MPG.0000000000000864.
85. Bondia-Martinez E, Lopez-Sabater MC, Castellote-Bargallo AI, Rodriguez-Palmero M, Gonzalez-Corbella MJ, Rivero-Urgell M, et al. Fatty acid composition of plasma and erythrocytes in term infants fed human milk and formulae

with and without docosahexaenoic and arachidonic acids from egg yolk lecithin. *Early Hum Dev* 1998; 53:S109-S119.

86. Wood KE, Mantzioris E, Gibson RA, Ramsden CE, Muhlhausler BS. The effect of modifying dietary LA and ALA intakes on omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid (n-3 LCPUFA) status in human adults: a systematic review and commentary. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2015; 95:47-55.

87. Patel PS, Sharp SJ, Jansen E, Luben RN, Khaw KT, Wareham NJ, et al. Fatty acids measured in plasma and erythrocyte-membrane phospholipids and derived by food-frequency questionnaire and the risk of new-onset type 2 diabetes: a pilot study in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk cohort. *Am J Clin Nutr* 2010; 92:1214-1222.

88. Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Hu FB. Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *Am J Clin Nutr* 2007; 86:74-81.

89. Wood KE, Lau A, Mantzioris E, Gibson RA, Ramsden CE, Muhlhausler BS. A low omega-6 polyunsaturated fatty acid (n-6 PUFA) diet increases omega-3 (n-3) long chain PUFA status in plasma phospholipids in humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014; 90:133-138.

90. Takkunen M, Agren J, Kuusisto J, Laakso M, Uusitupa M, Schwab U. Dietary fat in relation to erythrocyte fatty acid composition in men. *Lipids* 2013; 48:1093-1102.

91. Fuhrman BJ, Barba M, Krogh V, Micheli A, Pala V, Lauria R, et al. Erythrocyte membrane phospholipid composition as a biomarker of dietary fat. *Ann Nutr Metab* 2006; 50:95-102.

92. Kawabata T, Hirota S, Hirayama T, Adachi N, Kaneko Y, Iwama N, et al. Associations between dietary n-6 and n-3 fatty acids and arachidonic acid compositions in plasma and erythrocytes in young and elderly Japanese volunteers. *Lipids Health Dis* 2011;10:138. doi: 10.1186/1476-511X-10-138

93. Baldie G, Kaimakamis D, Rotondo D. Fatty acid modulation of cytokine release from human monocytic cells. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1179:125-133.
94. Wu Q, Zhou T, Ma L, Yuan D, Peng Y. Protective effects of dietary supplementation with natural omega-3 polyunsaturated fatty acids on the visual acuity of school-age children with lower IQ or attention-deficit hyperactivity disorder. *Nutrition* 2015. doi: 10.1016/j.nut.2014.12.026
95. Giorlandino C, Giannarelli D. Effect of vaginally administered DHA fatty acids on pregnancy outcome in high risk pregnancies for preterm delivery: a double blinded randomised controlled trial. *J Prenat Med* 2013; 7:42-45.
96. Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics* 2003; 111:e39-e44.
97. Helland IB, Smith L, Blomen B, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Effect of supplementing pregnant and lactating mothers with n-3 very-long-chain fatty acids on children's IQ and body mass index at 7 years of age. *Pediatrics* 2008; 122:e472-e479.
98. Gould JF, Smithers LG, Makrides M. The effect of maternal omega-3 (n-3) LCPUFA supplementation during pregnancy on early childhood cognitive and visual development: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2013; 97:531-544.
99. Meldrum S, Dunstan JA, Foster JK, Simmer K, Prescott SL. Maternal fish oil supplementation in pregnancy: a 12 year follow-up of a randomised controlled trial. *Nutrients* 2015; 7:2061-2067.
100. Makrides M, Gould JF, Gawlik NR, Yelland LN, Smithers LG, Anderson PJ, et al. Four-year follow-up of children born to women in a randomized trial of prenatal DHA supplementation. *JAMA* 2014; 311:1802-1804.

101. Berghaus TM, Demmelmair H, Koletzko B. Essential fatty acids and their long-chain polyunsaturated metabolites in maternal and cord plasma triglycerides during late gestation. *Biol Neonate* 2000; 77:96-100.
102. Decsi T, Campoy C, Koletzko B. Effect of N-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy: the Nuheal trial. *Adv Exp Med Biol* 2005;569:109-13.
103. Hawkes JS, Bryan DL, James MJ, Gibson RA. Cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, TGF-beta1, and TGF-beta2) and prostaglandin E2 in human milk during the first three months postpartum. *Pediatr Res* 1999; 46:194-199.
104. Urwin HJ, Miles EA, Noakes PS, Kremmyda LS, Vlachava M, Diaper ND, et al. Salmon consumption during pregnancy alters fatty acid composition and secretory IgA concentration in human breast milk. *J Nutr* 2012; 142:1603-1610.
105. Beaudry M, Dufour R, Marcoux S. Relation between infant feeding and infections during the first six months of life. *J Pediatr* 1995; 126:191-197.
106. Hanson LA. Human milk and host defence: immediate and long-term effects. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88:42-46.
107. Koletzko B, Boey CC, Campoy C, Carlson SE, Chang N, Guillermo-Tuazon MA, et al. Current information and Asian perspectives on long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation, and infancy: systematic review and practice recommendations from an early nutrition academy workshop. *Ann Nutr Metab* 2014; 65:49-80.
108. Ponder DL, Innis SM, Benson JD, Siegman JS. Docosahexaenoic acid status of term infants fed breast milk or infant formula containing soy oil or corn oil. *Pediatr Res* 1992; 32:683-688.
109. Granot E, Jakobovich E, Rabinowitz R, Levy P, Schlesinger M. DHA supplementation during pregnancy and lactation affects infants' cellular but not humoral immune response. *Mediators Inflamm* 2011; 2011:493925. doi: 10.1155/2011/493925.

110. Jensen CL, Maude M, Anderson RE, Heird WC. Effect of docosahexaenoic acid supplementation of lactating women on the fatty acid composition of breast milk lipids and maternal and infant plasma phospholipids. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:292S-299S.
111. Innis SM. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. *Am J Clin Nutr* 2014; 99:734S-741S.
112. Escolano-Margarit MV, Campoy C, Ramirez-Tortosa MC, Demmelmair H, Miranda MT, Gil A, et al. Effects of fish oil supplementation on the fatty acid profile in erythrocyte membrane and plasma phospholipids of pregnant women and their offspring: a randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2013; 109:1647-1656.
113. Much D, Brunner S, Vollhardt C, Schmid D, Sedlmeier EM, Bruderl M, et al. Effect of dietary intervention to reduce the n-6/n-3 fatty acid ratio on maternal and fetal fatty acid profile and its relation to offspring growth and body composition at 1 year of age. *Eur J Clin Nutr* 2013; 67:282-288.
114. Gonzalez-Rodriguez LG, Aparicio A, Lopez-Sobaler AM, Ortega RM. Omega 3 and omega 6 fatty acids intake and dietary sources in a representative sample of Spanish adults. *Int J Vitam Nutr Res* 2013; 83:36-47.
115. Christian P. Maternal nutrition, health, and survival. *Nutr Rev* 2002; 60:S59-S63.
116. Koletzko B, Cetin I, Brenna JT. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *Br J Nutr* 2007; 98:873-877.
117. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 2006;83:1505S-1519S.
118. Schaue D, Kachikwu EL, McBride WH. Cytokines in radiobiological responses: a review. *Radiat Res* 2012; 178:505-523.
119. Taleisnik Samuel. Receptores celulares y la trasducción de señales Encuentro Grupo Editor; 2006.

120. Fainboim Leonardo, Geffner Jorge. Introducción a la Inmunología Humana. 5 ed. Editorial Médica Panamericana; 2008.
121. Suárez A, Tejada R, Mozo L, Gutiérrez Martín C y Peña J. Citocinas y sus receptores. Inmunología en Línea 2014. Último acceso en Marzo 2015. Disponible en: URL: <http://www.inmunologiaenlinea.es/index.php/03mmm-11>.
122. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. Ann Nutr Metab 1997; 41:203-234.
123. Krauss-Etschmann S, Hartl D, Rzehak P, Heinrich J, Shadid R, Del CR-T, et al. Decreased cord blood IL-4, IL-13, and CCR4 and increased TGF-beta levels after fish oil supplementation of pregnant women. J Allergy Clin Immunol 2008; 121:464-470.
124. Murphy AM, Lyons CL, Finucane OM, Roche HM. Interactions between differential fatty acids and inflammatory stressors-impact on metabolic health. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2014 ; 92:49-55
125. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. Ann Nutr Metab 1997; 41:203-234.
126. MacLean E, Madsen N, Vliagoftis H, Field C, Cameron L. n-3 Fatty acids inhibit transcription of human IL-13: implications for development of T helper type 2 immune responses. Br J Nutr 2013; 109:990-1000.
127. Miles EA, Calder PC. Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and a systematic review of their effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. Br J Nutr 2012; 107:S171-S184.
128. Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G, et al. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. J Exp Med 2002; 196:1025-1037.

129. Dyall SC. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front Aging Neurosci* 2015; 7:52. doi: 10.3389/fnagi.2015.00052.
130. Hong S, Gronert K, Devchand PR, Moussignac RL, Serhan CN. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood, and glial cells. Autacoids in anti-inflammation. *J Biol Chem* 2003; 278:14677-14687.
131. Kenchegowda S, He J, Bazan HE. Involvement of pigment epithelium-derived factor, docosahexaenoic acid and neuroprotectin D1 in corneal inflammation and nerve integrity after refractive surgery. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013; 88:27-31.
132. Sierra S, Lara-Villoslada F, Comalada M, Olivares M, Xaus J. Dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid equally incorporate as decosahexaenoic acid but differ in inflammatory effects. *Nutrition* 2008; 24:245-254.
133. Calder PC. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2007; 77:327-335.
134. Calder PC. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008; 79:101-108.
135. McCann JC, Ames BN. Is docosahexaenoic acid, an n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? An overview of evidence from cognitive and behavioral tests in humans and animals. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:281-295.
136. Lee HS, Barraza-Villarreal A, Hernandez-Vargas H, Sly PD, Biessy C, Ramakrishnan U, et al. Modulation of DNA methylation states and infant immune system by dietary supplementation with omega-3 PUFA during pregnancy in an intervention study. *Am J Clin Nutr* 2013; 98:480-487.

137. von Ehrenstein OS, Neta GI, Andrews W, Goldenberg R, Goepfert A, Zhang J. Child intellectual development in relation to cytokine levels in umbilical cord blood. *Am J Epidemiol* 2012; 175:1191-1199.
138. Yoon BH, Park CW, Chaiworapongsa T. Intrauterine infection and the development of cerebral palsy. *BJOG* 2003; 110:124-127.
139. Pickler R, Brown L, McGrath J, Lyon D, Rattican D, Cheng CY, et al. Integrated review of cytokines in maternal, cord, and newborn blood: part II--associations with early infection and increased risk of neurologic damage in preterm infants. *Biol Res Nurs* 2010; 11:377-386.
140. Pickler RH, McGrath JM, Reyna BA, McCain N, Lewis M, Cone S, et al. A model of neurodevelopmental risk and protection for preterm infants. *J Perinat Neonatal Nurs* 2010; 24:356-365.
141. Bland ST, Beckley JT, Young S, Tsang V, Watkins LR, Maier SF, et al. Enduring consequences of early-life infection on glial and neural cell genesis within cognitive regions of the brain. *Brain Behav Immun* 2010; 24:329-338.
142. Huleihel M, Golan H, Hallak M. Intrauterine infection/inflammation during pregnancy and offspring brain damages: possible mechanisms involved. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2:17. doi:10.1186/1477-7827-2-17.
143. Garcia-Rodriguez CE, Olza J, Aguilera CM, Mesa MD, Miles EA, Noakes PS, et al. Plasma inflammatory and vascular homeostasis biomarkers increase during human pregnancy but are not affected by oily fish intake. *J Nutr* 2012; 142:1191-1196.
144. Sharma A, Satyam A, Sharma JB. Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF-alpha, IL-6 and IL-8) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy non-pregnant women. *Am J Reprod Immunol* 2007; 58:21-30.
145. Briana DD, Malamitsi-Puchner A. Reviews: adipocytokines in normal and complicated pregnancies. *Reprod Sci* 2009; 16:921-937.

146. Paradisi G, Biaggi A, Ferrazzani S, De CS, Caruso A. Abnormal carbohydrate metabolism during pregnancy : association with endothelial dysfunction. *Diabetes Care* 2002; 25:560-564.
147. Rogers LK, Valentine CJ, Pennell M, Velten M, Britt RD, Dingess K, et al. Maternal docosahexaenoic acid supplementation decreases lung inflammation in hyperoxia-exposed newborn mice. *J Nutr* 2011; 141:214-222.
148. Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr* 1996; 63:116-122.
149. Olsen SF, Hansen HS, Sorensen TI, Jensen B, Secher NJ, Sommer S, et al. Intake of marine fat, rich in (n-3)-polyunsaturated fatty acids, may increase birthweight by prolonging gestation. *Lancet* 1986; 2:367-369.
150. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* 2002; 21:495-505.
151. Himmelfarb J, Phinney S, Ikizler TA, Kane J, McMonagle E, Miller G. Gamma-tocopherol and docosahexaenoic acid decrease inflammation in dialysis patients. *J Ren Nutr* 2007; 17:296-304.
152. Greenberg JA, Bell SJ, Ausdal WV. Omega-3 Fatty Acid supplementation during pregnancy. *Rev Obstet Gynecol* 2008; 1:162-169.
153. Otto SJ, van Houwelingen AC, Badart-Smook A, Hornstra G. Comparison of the peripartum and postpartum phospholipid polyunsaturated fatty acid profiles of lactating and nonlactating women. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:1074-1079.
154. Lauritzen L, Carlson SE. Maternal fatty acid status during pregnancy and lactation and relation to newborn and infant status. *Matern Child Nutr* 2011; 7:41-58.
155. Su HM. Mechanisms of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. *J Nutr Biochem* 2010; 21:364-373.

156. Smithers LG, Gibson RA, McPhee A, Makrides M. Effect of two doses of docosahexaenoic acid (DHA) in the diet of preterm infants on infant fatty acid status: results from the DINO trial. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008; 79:141-146.
157. Innis SM, Friesen RW. Essential n-3 fatty acids in pregnant women and early visual acuity maturation in term infants. *Am J Clin Nutr* 2008; 87:548-557.
158. Olsen SF, Hansen HS, Sommer S, Jensen B, Sorensen TI, Secher NJ, et al. Gestational age in relation to marine n-3 fatty acids in maternal erythrocytes: a study of women in the Faroe Islands and Denmark. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164:1203-1209.
159. Parra-Cabrera S, Stein AD, Wang M, Martorell R, Rivera J, Ramakrishnan U. Dietary intakes of polyunsaturated fatty acids among pregnant Mexican women. *Matern Child Nutr* 2011; 7:140-147.
160. Miles EA, Noakes PS, Kremmyda LS, Vlachava M, Diaper ND, Rosenlund G, et al. The Salmon in Pregnancy Study: study design, subject characteristics, maternal fish and marine n-3 fatty acid intake, and marine n-3 fatty acid status in maternal and umbilical cord blood. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 1986S-1992S.
161. Hanahan DJ, Ekholm JE. The preparation of red cell ghosts (membranes). *Methods Enzymol* 1974; 31:168-172.
162. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 1986; 27:114-120.
163. Laird NM, Ware JH. Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics* 1982; 38:963-974.
164. van Houwelingen AC, Sorensen JD, Hornstra G, Simonis MM, Boris J, Olsen SF, et al. Essential fatty acid status in neonates after fish-oil supplementation during late pregnancy. *Br J Nutr* 1995; 74:723-731.

165. Al MD, von Houwelingen AC, Badart-Smook A, Hornstra G. Some aspects of neonatal essential fatty acid status are altered by linoleic acid supplementation of women during pregnancy. *J Nutr* 1995; 125:2822-2830.
166. Fekete K, Marosvolgyi T, Jakobik V, Decsi T. Methods of assessment of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:2070S-2084S.
167. Krauss-Etschmann S, Shadid R, Campoy C, Hoster E, Demmelmair H, Jimenez M, et al. Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1392-1400.
168. Helland IB, Saugstad OD, Saarem K, van Houwelingen AC, Nylander G, Drevon CA. Supplementation of n-3 fatty acids during pregnancy and lactation reduces maternal plasma lipid levels and provides DHA to the infants. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2006; 19:397-406.
169. Al MD, von Houwelingen AC, Badart-Smook A, Hornstra G. Some aspects of neonatal essential fatty acid status are altered by linoleic acid supplementation of women during pregnancy. *J Nutr* 1995; 125:2822-2830.
170. Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, Penders M, Zegwaard M. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res* 1997; 38:2012-2022.
171. Larque E, Krauss-Etschmann S, Campoy C, Hartl D, Linde J, Klingler M, et al. Docosahexaenoic acid supply in pregnancy affects placental expression of fatty acid transport proteins. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:853-861.
172. Imhoff-Kunsch B, Stein AD, Villalpando S, Martorell R, Ramakrishnan U. Docosahexaenoic acid supplementation from mid-pregnancy to parturition influenced breast milk fatty acid concentrations at 1 month postpartum in Mexican women. *J Nutr* 2011; 141:321-326.

173. Marc I, Plourde M, Lucas M, Sterescu A, Piedboeuf B, Dufresne A, et al. Early docosahexaenoic acid supplementation of mothers during lactation leads to high plasma concentrations in very preterm infants. *J Nutr* 2011; 141:231-236.
174. Dunstan JA, Mitoulas LR, Dixon G, Doherty DA, Hartmann PE, Simmer K, et al. The effects of fish oil supplementation in pregnancy on breast milk fatty acid composition over the course of lactation: a randomized controlled trial. *Pediatr Res* 2007; 62:689-694.
175. Boris J, Jensen B, Salvig JD, Secher NJ, Olsen SF. A randomized controlled trial of the effect of fish oil supplementation in late pregnancy and early lactation on the n-3 fatty acid content in human breast milk. *Lipids* 2004; 39:1191-1196.
176. Khedr EM, Farghaly WM, Amry S, Osman AA. Neural maturation of breastfed and formula-fed infants. *Acta Paediatr* 2004; 93:734-738.
177. Amminger GP, Schafer MR, Klier CM, Slavik JM, Holzer I, Holub M, et al. Decreased nervonic acid levels in erythrocyte membranes predict psychosis in help-seeking ultra-high-risk individuals. *Mol Psychiatry* 2012; 17:1150-1152.
178. Babin F, Sarda P, Limasset B, Descomps B, Rieu D, Mendy F, et al. Nervonic acid in red blood cell sphingomyelin in premature infants: an index of myelin maturation? *Lipids* 1993; 28:627-630.
179. De GR, Roggi C, Cena H. n-3 LC-PUFA supplementation: effects on infant and maternal outcomes. *Eur J Nutr* 2014; 53:1147-54.
180. Hwang I, Cha A, Lee H, Yoon H, Yoon T, Cho B, et al. N-3 polyunsaturated fatty acids and atopy in Korean preschoolers. *Lipids* 2007; 42:345-349.
181. Furuholm C, Warstedt K, Fageras M, Falth-Magnusson K, Larsson J, Fredriksson M, et al. Allergic disease in infants up to 2 years of age in relation to plasma omega-3 fatty acids and maternal fish oil supplementation in pregnancy and lactation. *Pediatr Allergy Immunol* 2011; 22:505-514.

182. Montes R, Chisaguano AM, Castellote AI, Morales E, Sunyer J, Lopez-Sabater MC. Fatty-acid composition of maternal and umbilical cord plasma and early childhood atopic eczema in a Spanish cohort. *Eur J Clin Nutr* 2013; 67:658-663.
183. Sala-Vila A, Miles EA, Calder PC. Fatty acid composition abnormalities in atopic disease: evidence explored and role in the disease process examined. *Clin Exp Allergy* 2008; 38:1432-1450.
184. Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Taylor AL, Holt PG, et al. Maternal fish oil supplementation in pregnancy reduces interleukin-13 levels in cord blood of infants at high risk of atopy. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:442-8.
185. Koch C, Dolle S, Metzger M, Rasche C, Jungclas H, Ruhl R, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) supplementation in atopic eczema: a randomized, double-blind, controlled trial. *Br J Dermatol* 2008; 158:786-92.
186. Miyake Y, Tanaka K, Okubo H, Sasaki S, Arakawa M. Maternal fat intake during pregnancy and wheeze and eczema in Japanese infants: the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study. *Ann Epidemiol* 2013; 23:674-680.
187. Kaczmarek M, Cudowska B, Sawicka-Zukowska M, Bobrus-Chociej A. Supplementation with long chain polyunsaturated fatty acids in treatment of atopic dermatitis in children. *Postepy Dermatol Alergol* 2013; 30:103-107.
188. Escamilla-Nunez MC, Barraza-Villarreal A, Hernandez-Cadena L, Navarro-Olivos E, Sly PD, Romieu I. Omega-3 fatty acid supplementation during pregnancy and respiratory symptoms in children. *Chest* 2014; 146:373-382.
189. Lapillonne A, Pastor N, Zhuang W, Scalabrin DM. Infants fed formula with added long chain polyunsaturated fatty acids have reduced incidence of respiratory illnesses and diarrhea during the first year of life. *BMC Pediatr* 2014;14:168-176. doi: 10.1186/1471-2431-14-168.
190. Imhoff-Kunsch B, Stein AD, Martorell R, Parra-Cabrera S, Romieu I, Ramakrishnan U. Prenatal docosahexaenoic acid supplementation and infant morbidity: randomized controlled trial. *Pediatrics* 2011; 128:e505-e512.

191. Olsen SF, Secher NJ. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. *BMJ* 2002; 324:447. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.324.7335.447>.
192. Olsen SF, Osterdal ML, Salvig JD, Kesmodel U, Henriksen TB, Hedegaard M, et al. Duration of pregnancy in relation to seafood intake during early and mid pregnancy: prospective cohort. *Eur J Epidemiol* 2006; 21:749-758.
193. Olsen SF, Sorensen JD, Secher NJ, Hedegaard M, Henriksen TB, Hansen HS, et al. Randomised controlled trial of effect of fish-oil supplementation on pregnancy duration. *Lancet* 1992; 339:1003-1007.
194. Dhobale MV, Wadhwani N, Mehendale SS, Pisal HR, Joshi SR. Reduced levels of placental long chain polyunsaturated fatty acids in preterm deliveries. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2011; 85:149-153.
195. Schulzke SM, Patole SK, Simmer K. Long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(2):CD000375.
196. Carlson SE, Colombo J, Gajewski BJ, Gustafson KM, Mundy D, Yeast J, et al. DHA supplementation and pregnancy outcomes. *Am J Clin Nutr* 2013; 97:808-815.
197. Salvig JD, Lamont RF. Evidence regarding an effect of marine n-3 fatty acids on preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011; 90:825-838.
198. Szajewska H, Horvath A, Koletzko B. Effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of women with low-risk pregnancies on pregnancy outcomes and growth measures at birth: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1337-1344.
199. Ramakrishnan U, Stein AD, Parra-Cabrera S, Wang M, Imhoff-Kunsch B, Juarez-Marquez S, et al. Effects of docosahexaenoic acid supplementation during

pregnancy on gestational age and size at birth: randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Mexico. *Food Nutr Bull* 2010; 31:S108-S116.

200. Makrides M, Gibson RA, McPhee AJ, Yelland L, Quinlivan J, Ryan P. Effect of DHA supplementation during pregnancy on maternal depression and neurodevelopment of young children: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010; 304:1675-1683.

201. Uauy R, Mena P. Long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation in preterm infants. *Curr Opin Pediatr* 2015; 27:165-71.

202. De CR, Cybulsky MI, Clinton SK, Gimbrone MA, Jr., Libby P. The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:1829-1836.

203. Khalfoun B, Thibault F, Watier H, Bardos P, Lebranchu Y. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv Exp Med Biol* 1997; 400B:589-597.

204. Chu AJ, Walton MA, Prasad JK, Seto A. Blockade by polyunsaturated n-3 fatty acids of endotoxin-induced monocytic tissue factor activation is mediated by the depressed receptor expression in THP-1 cells. *J Surg Res* 1999; 87:217-224.

205. Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, et al. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med* 1989; 320:265-271.

206. Meydani SN, Endres S, Woods MM, Goldin BR, Soo C, Morrill-Labrode A, et al. Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *J Nutr* 1991; 121:547-555.

207. Gallai V, Sarchielli P, Trequattrini A, Franceschini M, Floridi A, Firenze C, et al. Cytokine secretion and eicosanoid production in the peripheral blood

mononuclear cells of MS patients undergoing dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Neuroimmunol* 1995; 56:143-153.

208. Meydani SN, Lichtenstein AH, Cornwall S, Meydani M, Goldin BR, Rasmussen H, et al. Immunologic effects of national cholesterol education panel step-2 diets with and without fish-derived N-3 fatty acid enrichment. *J Clin Invest* 1993; 92:105-113.

209. Wachtler P, Konig W, Senkal M, Kemen M, Koller M. Influence of a total parenteral nutrition enriched with omega-3 fatty acids on leukotriene synthesis of peripheral leukocytes and systemic cytokine levels in patients with major surgery. *J Trauma* 1997; 42:191-198.

210. Vaisman N, Zaruk Y, Shirazi I, Kaysar N, Barak V. The effect of fish oil supplementation on cytokine production in children. *Eur Cytokine Netw* 2005; 16:194-198.

211. PC Calder. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? *Nutrition Res* 2001; 21:309-341.

212. Das UN. Beneficial effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the management of systemic lupus erythematosus and its relationship to the cytokine network. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1994; 51:207-213.

213. Martinez-Micaelo N, Gonzalez-Abuin N, Terra X, Richart C, Ardevol A, Pinent M, et al. Omega-3 docosahexaenoic acid and procyanidins inhibit cyclooxygenase activity and attenuate NF-kappaB activation through a p105/p50 regulatory mechanism in macrophage inflammation. *Biochem J* 2012; 441:653-663.

214. Endres S, Meydani SN, Ghorbani R, Schindler R, Dinarello CA. Dietary supplementation with n-3 fatty acids suppresses interleukin-2 production and mononuclear cell proliferation. *J Leukoc Biol* 1993; 54:599-603.

215. Sargent IL, Borzychowski AM, Redman CW. NK cells and human pregnancy--an inflammatory view. *Trends Immunol* 2006; 27:399-404.

216. Vedin I, Cederholm T, Freund LY, Basun H, Garlind A, Faxen IG, et al. Effects of docosahexaenoic acid-rich n-3 fatty acid supplementation on cytokine release from blood mononuclear leukocytes: the OmegAD study. *Am J Clin Nutr* 2008; 87:1616-1622.
217. Noakes PS, Vlachava M, Kremmyda LS, Diaper ND, Miles EA, Erlewyn-Lajeunesse M, et al. Increased intake of oily fish in pregnancy: effects on neonatal immune responses and on clinical outcomes in infants at 6 mo. *Am J Clin Nutr* 2012; 95:395-404.
218. van NA, Koenders M, Roeleveld D, Sleeman MA, van den Berg W, Wicks IP. GM-CSF as a therapeutic target in inflammatory diseases. *Mol Immunol* 2013; 56:675-682.
219. Fillatreau S, Sweenie CH, McGeachy MJ, Gray D, Anderton SM. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat Immunol* 2002; 3:944-950.
220. Mizoguchi A, Mizoguchi E, Takedatsu H, Blumberg RS, Bhan AK. Chronic intestinal inflammatory condition generates IL-10-producing regulatory B cell subset characterized by CD1d upregulation. *Immunity* 2002; 16:219-230.
221. Hawkes JS, Bryan DL, Makrides M, Neumann MA, Gibson RA. A randomized trial of supplementation with docosahexaenoic acid-rich tuna oil and its effects on the human milk cytokines interleukin 1 beta, interleukin 6, and tumor necrosis factor alpha. *Am J Clin Nutr* 2002; 75:754-760.
222. Warstedt K, Furuholm C, Duchon K, Falth-Magnusson K, Fageras M. The effects of omega-3 fatty acid supplementation in pregnancy on maternal eicosanoid, cytokine, and chemokine secretion. *Pediatr Res* 2009; 66:212-217.
223. Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Taylor AL, Holt PG, et al. Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:1178-1184.

ANEXOS I

9. ANEXOS I

9.1. ENCUESTA NUTRICIONAL

INSTRUCCIONES PARA RELLENAR ESTA ENCUESTA:

1. Esta encuesta consiste en recordar y/o anotar todos los alimentos consumidos durante 4 días, tres de los cuales pueden ser cualquier día entre el lunes y el viernes, y el cuarto debe de ser un día de fin de semana (sábado o domingo).
2. Para cada día debe de rellenar una tabla distinta, indicando en primer lugar la fecha y el día de la semana al que se refiere.
3. La tabla está dividida en 5 apartados: desayuno, media mañana, comida, merienda y cena.
4. La tabla consta de 4 columnas:

COLUMNA 1: ALIMENTOS

- En cada fila de esta columna deberá anotar el nombre de los alimentos y bebidas consumidos, sin olvidar los que se hayan tomado entre horas (refrescos, tapas, caramelos,...). Indicar sólo un alimento por fila.
- Debe de anotar también el tipo de alimento.

Ejemplos

- Si consume carne, indique si es cerdo, ternera, pollo (pechuga, muslo),...
- Si consume pescado, indique si son boquerones, merluza, sardinas,...
- Nombre de las verduras: tomates, zanahorias, coliflor,...
- Tipo de aceite: oliva, girasol,...
- Pan blanco, integral, de molde,...
- Indique también si le echa azúcar, aceite,...
- Si es un alimento elaborado con varios ingredientes, indique el nombre de todos los ingredientes que lo componen, cada uno de los ingredientes debe ir en una fila diferente:

Ejemplo:

- Si usted come una ensalada con lechuga, tomate, cebolla, pepino,... deberá indicar en una fila la lechuga, en otra fila el tomate,... y anotar las cantidades de cada ingrediente por separado.

COLUMNA 2: **PREPARACIÓN**

- En esta columna deberá indicar la forma de preparación de los alimentos indicados en la columna anterior: Ejemplo: crudo, a la plancha, cocido, al horno, frito,...

COLUMNA 3: **MEDIDA CASERA**

- Indique la cantidad del alimento consumido utilizando una medida casera como puedan ser:
 - Cucharita de postre
 - Cuchara
 - Vaso pequeño
 - Vaso
 - Numero o porción de una pieza y su tamaño: (Ejemplo: un plátano, un filete pequeño, un cuarto de cebolla...)

COLUMNA 4: **CANTIDAD EN GRAMOS:**

- En esta columna debe de indicar, si la conoce, la cantidad en gramos del alimento ingerido. Para ello puede ayudarse de la cantidad indicada en el envase. Es importante que al menos rellene una de estas dos últimas columnas para cada alimento o ingrediente.

Ejemplo:

ALIMENTOS	PREPARACIÓN	MEDIDA CASERA	CANTIDAD (gramos)
Comida:			
Patatas	fritas	Medio plato	

Filete de pechuga de pollo	plancha	Dos filetes	250 gramos
Pan blanco		Un bollo	60 gramos
Yogur natural azucarado		Un yogur	125 gramos
Melocotón		Una pieza	

5. Al final de cada tabla encontrará un casillero de **Incidenicias** donde debe anotar si a lo largo de ese día ha tomado alguna medicación fuera de la habitual o si sufre alguna dolencia leve como pueda ser un dolor de cabeza, dolor de estómago...
6. Una vez finalizada toda la encuesta, introducir en el sobre adjunto y enviar por correo.

Muchas gracias por su colaboración en este estudio.

DÍA 1	Fecha:		
	Día de la semana:		
ALIMENTOS	PREPARACIÓN	MEDIDA CASERA	CANTIDAD (gramos)
Desayuno:			
Media mañana:			
Comida:			
Merienda:			
Cena:			
Incidencias:			

DÍA 2	Fecha:		
	Día de la semana:		
ALIMENTOS	PREPARACIÓN	MEDIDA CASERA	CANTIDAD (gramos)
Desayuno:			
Media mañana:			
Comida:			
Merienda:			
Cena:			
Incidencias:			

DÍA 3	Fecha:		
	Día de la semana:		
ALIMENTOS	PREPARACIÓN	MEDIDA CASERA	CANTIDAD (gramos)
Desayuno:			
Media mañana:			
Comida:			
Merienda:			
Cena:			
Incidencias:			

DÍA 4	Fecha:		
	Día de la semana:		
ALIMENTOS	PREPARACIÓN	MEDIDA CASERA	CANTIDAD (gramos)
Desayuno:			
Media mañana:			
Comida:			
Merienda:			
Cena:			
Incidencias:			

9.2. EVALUACIÓN DE LA INGESTA NUTRICIONAL

DATOS PERSONALES:

Nombre:

Edad:

Sexo: (H-Hombre / M-Mujer):

Teléfono:

Código:

1. ¿Alguno de los días recogidos en la encuesta comió o cenó fuera de casa?

	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4
Si, una vez.	☐	☐	☐	☐
Si, dos veces	☐	☐	☐	☐
No	☐	☐	☐	☐

2. ¿Considera que la dieta consumida en los días indicados fue la habitual?

	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4
Sí, fue un día habitual	☐	☐	☐	☐
La comida fue especial	☐	☐	☐	☐
La cena fue especial	☐	☐	☐	☐
Todas las comidas fueron especiales	☐	☐	☐	☐

3. ¿Realiza en la actualidad alguna dieta o régimen?

☐ Si

☐ No

En caso afirmativo indique el motivo:

4. ¿Está tomando vitaminas o suplementos dietéticos?

☐ Si

☐ No

En caso afirmativo indique el nombre y la cantidad diaria:

5. Indique el tipo de aceite que consume para:

	Oliva virgen	Oliva	Girasol	Otros*
Crudo: ensaladas, aliños,...	☐	☐	☐	☐
Para Freír	☐	☐	☐	☐

*** Indique el tipo de aceite:**

9.3. FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

Durante el último año, ¿con qué frecuencia consumió los siguientes alimentos?

ALIMENTOS	NUNCA	VECES/ DÍA	VECES/ SEMANA	VECES/ MES	VECES/ AÑO
CARNES					
Pollo/ aves					
Ternera/toro					
Cerdo					
Cordero					
Conejo					
Jamón serrano					
Jamón York					
Embutidos (chorizo, salchichas, mortadela, chopped, etc.)					
Hígado, riñón, corazón, cesos					
PESCADO Y MARISCO					
Pescado blanco (merluza, lenguado, rape, etc.)					
Pescado azul (atún , sardina, boquerón, caballa, aguja, etc.)					
Pescado en conserva					
Calamares, chopitos, pulpo, sepia, choco, etc.					
Mariscos (gambas, langostinos, almejas, mejillones, etc.)					
Peces de río (trucha, salmón, etc.)					
HUEVOS					
Huevo frito, cocido, tortilla, etc.					
LEGUMBRES					
Lentejas					
Garbanzos					
Judías blancas/chícharos					
Guisantes					
CEREALES					
Pan blanco					
Pan integral					

Pan de molde					
Arroz (todas sus modalidades)					
Pasta (fideos, macarrones, pizza, etc.)					
Patatas (fritas, cocidas, asadas, en tortilla, etc.)					
LÁCTEOS					
Leche entera					
Leche semidesnatada					
Leche desnatada					
Leche condensada					
Yogurt entero					
Yogurt desnatado					
Natillas/flan					
Queso fresco					
Queso Manchego, bola					
Queso en porciones					
Queso fundido					
Helados					
GRASAS					
Mantequilla					
Margarina					
Tocino, manteca					
Mayonesa					
Aceite de oliva virgen					
Aceite de oliva refinado (no virgen)					
Aceite de orujo (oliva)					
Aceite mezcla virgen-refinado					
Aceite de semillas (girasol, maíz, otros)					
Aceitunas					
VERDURAS					
Lechuga					
Tomate (natural, en ensalada, frito, etc.)					
Pimiento (natural, en ensalada, frito, etc.)					
Zanahoria					
Judías verdes					
Cebolla					

Col/coliflor					
Acelgas/espinacas					
Espárragos					
Habas frescas					
Champiñón y setas					
FRUTAS					
Manzana					
Peras					
Naranjas/mandarinas					
Plátanos					
Melocotón					
Fresas					
Uvas					
Melón/sandía					
En conserva					
DULCES Y PASTELES					
Azúcar/miel					
Mermelada					
Chocolate/cacao					
Galletas/pastas/pasteles/bollería/dulces/caramelos					
BEBIDAS					
Zumos de frutas envasados					
Refrescos					
Cerveza/sidra					
Vino					
Ron/Ginebra/Coñac/Anís/Whisky/licores					
FRUTOS SECOS					
Almendras, avellanas, cacahuètes, nueces, etc.					

CONSUMO DE ACEITE**Tipo de aceite:****Compra semanal media (litros):****Nº miembros familia:**

CONSUMO DE PAN**Tipo:****Compra por día (g):****Sobrante medio por día (g):***Comprobar si la cantidad sobrante del día la aprovecha para el desayuno del día siguiente.***CONSUMO DE TABACO**

1. ¿Usted fuma actualmente?

1.1. Sí fumo (al menos uno al día).....

☐*(se incluirán las personas que hayan dejado de fumar dos meses antes de la entrevista)*

1.2. No fumo actualmente, pero fumé tiempo atrás.....

☐

1.3. No fumo actualmente, no he fumado nunca.....

☐

2. ¿cuál es el tipo de tabaco que fuma habitualmente? (respuesta múltiple)

2.1. Rubio

☐

2.2. Negro

☐

2.3. Puros

☐

2.4. En pipa

☐

3. Si fuma cigarrillos, ¿cuántos fuma al día?.....

4. Si fuma puros, ¿cuántos a la semana?.....

5. Si fuma pipa, ¿cuánto tabaco (gramos/semana)?.....

ACTIVIDAD FÍSICA**1. EN EL TRABAJO**

Quisiéramos saber el tipo y la cantidad física que implica su trabajo. Señale cuál de las 4 posibilidades siguientes se corresponde mejor con su trabajo actual: (si tiene más de un trabajo, indique al que más horas por semana dedica, Si está jubilado o no trabaja actualmente, deje la pregunta en blanco).

1.1. Ocupación sedentaria..... ☐

Usted pasa la mayor parte de su tiempo sentado, por ejemplo trabajo de oficina, etc.

1.2. Ocupación que implica estar de pie..... ☐

Usted pasa la mayor parte de su tiempo de pie o andando. Su trabajo no requiere un esfuerzo físico intenso (por ejemplo, dependiente de una tienda, peluquero, guarda de seguridad, etc.)

1.3. Trabajo manual..... ☐

Implica cierto esfuerzo físico que puede incluir el manejo de objetos pesado y la utilización de herramientas (por ejemplo, fontanero, electricista, carpintero, etc.)

1.4 Trabajo manual pesado..... ☐

Implica una actividad física muy vigorosa que incluya el manejo de objetos muy pesados (por ejemplo, estibador, albañil, minero, peón de construcción, etc.)

2. OTRAS ACTIVIDADES

En una semana habitual durante el año pasado, ¿cuántas horas dedicó a cada una de las actividades siguientes?

2.1. Caminar (incluye desplazamientos al trabajo y tiempo libre).

Horas/semana (Verano).....

Horas/semana (Invierno).....

2.2. Ir en bicicleta (incluye desplazamientos al trabajo y tiempo libre).

Horas/semana (Verano).....

Horas/semana (Invierno).....

2.3. Ejercicio físico (fútbol, aeróbic, natación, tenis, gimnasia, correr, etc.)

Horas/semana (Verano).....

Horas/semana (Invierno).....

2.4. Trabajo de la casa (limpiar, lavar, cocinar, cuidar de los niños, etc.)

Horas/semana.....

2.5. ¿Cuántos pisos de escaleras sube cada día?.....pisos por día

2.6. Otras actividades (jardinería, bricolaje, etc.)

Horas/semana.....

9.4 HOJA INFORMATIVA PARA LA VOLUNTARIA

Título del proyecto: “INFLUENCIA DE LA GRASA ALIMENTARIA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA Y SOBRE EL DESARROLLO DEL RECIÉN NACIDO”

Objetivo: conocer el perfil lipídico más adecuado para la dieta de una mujer durante el embarazo y la lactancia, así como, evaluar los efectos beneficiosos, para la madre y para el niño, de un suplemento de DHA en dicha dieta.

Metodología: consumir desde el 6º mes de embarazo y hasta el final de la lactancia una dieta equilibrada que incluirá 500mL/día (2 vasos al día) de un producto lácteo desnatado enriquecido en DHA o del mismo producto lacteo desnatado sin DHA. Se tomarán 4 muestras de sangre (5 mililitros) de la madre (inicio, parto, 3 meses, 6 meses), 1 muestra de leche materna (10 mililitros) en cada mes de lactancia, 1 muestra de sangre de cordón umbilical, 1 muestra de placenta y 3 muestras de sangre del niño (5 mL a los 3, 6 y 12 meses de vida). Se hará una revisión en el segundo trimestre del embarazo y otra después de la semana 37. Se harán revisiones mensuales del niño hasta que cumpla el primer año de edad y que incluirán el seguimiento de su desarrollo motor y cognitivo. Las muestras serán procesadas y conservadas por los laboratorios participantes (Instituto de Nutrición de Granada, Hospital de Cruces de Baracaldo y Puleva Biotech S. A.) con la finalidad de obtener diversos parámetros de interés para el estudio. Una vez acabado el mismo, todos los laboratorios se comprometen a la destrucción de las mismas por los métodos adecuados. Por último se realizarán diferentes encuestas a lo largo del estudio para evaluar el seguimiento de la dieta por parte de cada voluntaria.

Beneficios esperados: los beneficios, para la madre y para el niño, del consumo de una dieta equilibrada durante el embarazo y la lactancia son ampliamente conocidos.

Incomodidades y riesgos derivados del estudio: al proceder a la extracción de las muestras de sangre la voluntaria podría notar síntomas como picor, rubor, escozor, dolor etc... en la zona del pinchazo. No se espera ningún otro riesgo o incomodidad.

Posibles acontecimientos adversos: no se esperan.

Carácter voluntario de su participación: la participación es voluntaria así como la posibilidad de retirarse del estudio en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación participante-investigador.

Personas que tendrán acceso a los datos: los datos serán tratados según establece la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Los investigadores de este estudio garantizan la confidencialidad de los datos. Cada voluntario contará con una clave de identificación y sólo tendrán acceso a sus datos los responsables del mismo: Dr.José Mataix, Dr.José Antonio Hurtado, Dr.Pablo Sanjurjo, Dr.Luis Peña. Todos mantendrán una confidencialidad absoluta.

Modo de compensación económica: se hará un seguimiento exhaustivo de la embarazada y de su hijo, que incluirá tests de desarrollo motor y cognitivo que no se llevan a cabo de forma rutinaria. Además las analíticas de la madre y de su hijo le serán entregadas a la madre.

Cualquier aspecto que establezca dudas y preguntas para el participante, podrá consultarse antes, durante y después del estudio a los organizadores del mismo (teléfonos 958-240331 y 958-240398).

9.5. CONSENTIMIENTO INFORMADO (HOJA DE ADMISION EN EL ESTUDIO)

Título del proyecto: “INFLUENCIA DE LA GRASA ALIMENTARIA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA Y SOBRE EL DESARROLLO DEL RECIÉN NACIDO”

Yo,.....
..... (Nombre y apellidos de la voluntaria)

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con los responsables sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que me puedo retirar del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

• Fecha:

Firmado:

ANEXOS II

Sociedad Española de
Gastroenterología,
Hepatología y Nutrición
Pediátrica

Presidente
Carmen Ribes Koninckx

Secretario
Esteban Frauca Remacha

Tesorero
José Ignacio García Burriel

Vocales
Juan José Díaz Martín
Beatriz Espín Jaime
Javier Martín de Carpi

Comité Organizador
XXII Congreso
Murcia, 21-23 mayo 2015

Presidente
José M^a Nadal Ortega

Secretario
David Gil Ortega

Vocales
Francisco José Chicano Marín
Marcos Antonio Giménez Abadía
María Ángeles Gómez Ortigosa
María Teresa Montero Cebrián
María Navalón Rubio
Inmaculada Vives Piñera

CERTIFICADO DE PREMIO

El Presidente de la SEGHPNP certifica que los autores

Rodríguez Santana Y¹, Saavedra Santana P², Ochoa J³, Lara Villoslada F⁴, Hurtado JA⁵, Peña M⁵, Peña Quintana L^{1,6} y Grupo NUGELA.

¹Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil de Canarias. Las Palmas. ²Departamento de Matemáticas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. ³Department of Physiology. Institute of Nutrition and Food Technology "José Mataix Verdú". University of Granada, Granada.

⁴Research and Development Department. Lactalis Puleva. Granada. ⁵Departamento de Neonatología. Hospital Materno Infantil Virgen de las Nieves. Granada. ⁶Departamento de Ciencias Clínicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

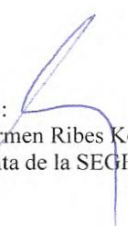
han obtenido el primer accésit Nestlé a la mejor Comunicación de Nutrición titulada:

"Distribución de citoquinas en madres y niños tras la ingesta de un suplemento dietético de DHA en el último trimestre del embarazo y periodo de lactancia."

presentada en el

XXII Congreso de la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, celebrado en Murcia los días 21, 22 y 23 de mayo de 2015.

Firmado:
Dra. Carmen Ribes Koninckx
Presidenta de la SEGHPNP





SOCIEDAD
ESPAÑOLA DE
GASTROENTEROLOGÍA,
HEPATOLOGÍA Y
NUTRICIÓN
PEDIÁTRICA

Sociedad Española de
Gastroenterología,
Hepatology y Nutrición
Pediátrica

Presidente
Carmen Ribes Koninckx

Secretario
Esteban Frauca Remacha

Tesorero
José Ignacio García Burriel

Vocales
Juan José Díaz Martín
Beatriz Espín Jaime
Javier Martín de Carpi

Comité Organizador
XXII Congreso
Murcia, 21-23 mayo 2015

Presidente
José M^a Nadal Ortega

Secretario
David Gil Ortega

Vocales
Francisco José Chicano Marín
Marcos Antonio Giménez Abadía
María Ángeles Gómez Ortigosa
María Teresa Montero Cebrián
María Navalón Rubio
Inmaculada Vives Piñera

CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

El Comité Científico certifica que los autores

Rodríguez Santana Y¹, Saavedra Santana P², Ochoa J³, Lara Villoslada F⁴, Hurtado JA⁵,
Peña M⁶, Peña Quintana L^{1,6} y Grupo NUGELA. ¹Unidad de Gastroenterología y Nutrición
Pediátrica. Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil de Canarias. Las
Palmas. ²Departamento de Matemáticas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
³Department of Physiology. Institute of Nutrition and Food Technology "José Mataix Verdú".
University of Granada, Granada. ⁴Research and Development Department. Lactalis Puleva.
Granada. ⁵Departamento de Neonatología. Hospital Materno Infantil Virgen de las Nieves.
Granada. ⁶Departamento de Ciencias Clínicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

han participado con la comunicación oral titulada:

Distribución de citoquinas en madres y niños tras la ingesta de un suplemento dietético
de DHA en el último trimestre del embarazo y periodo de lactancia.

en el

XXII Congreso de la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y
Nutrición Pediátrica, celebrado en Murcia los días 21 al 23 de mayo de 2015.

Firmado:

Dr. José M^a Nadal Ortega
Presidente Comité Organizador



Las Sociedades Canarias de Pediatría,
otorgan el

ACCESIT A LA MEJOR COMUNICACIÓN ORAL

**Efecto de la ingesta de un suplemento de
DHA en el último trimestre del
embarazo y lactancia sobre la secreción de
citoquinas en madres y niños**

Autores:

***Rodríguez Santana Y, Medina Hernández I, Martín Cruz F,
Ochoa Herrera J, Lara-Villoslada F, Saavedra Santana P,
Peña Quintana L, y grupo NUGELA.***

Adeje Tenerife a 27 de junio de 2015

Rosa Gloria Suárez López de Vergara
Presidenta de la Sociedad Canaria
de Pediatría de S/C de Tenerife

Luis García Ramos Estarriol
Secretario de la Sociedad Canaria
de Pediatría de S/C de Tenerife