



## **EFFECTO DEL TIPO DE LACTANCIA DURANTE EL PRIMER AÑO DE VIDA SOBRE EL ESTADO DE HIERRO Y EL DESARROLLO FÍSICO Y PSICOLÓGICO DEL NIÑO**

**Cristina Bedmar Carretero**

**Dipòsit Legal: T. 56-2013**

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

CRISTINA BEDMAR CARRETERO

**Efecto del tipo de lactancia durante el  
primer año de vida sobre el estado de  
hierro y el desarrollo físico y  
psicológico del niño**

TESIS DOCTORAL

Dirigida por Dra. **Victoria Arija Val** y  
Dra. **Núria Aranda Pons**

Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

**Reus, 2012**



*A mi madre*



## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría expresar mi agradecimiento a todas las personas que han colaborado en la realización de este trabajo:

A **Victoria Arija** por brindarme la oportunidad de descubrir el mundo de la investigación, contagiarme las ganas de trabajar en este ámbito y a la vez por motivarme a realizar esta tesis doctoral y guiarme en la elaboración de ésta.

A **Núria Aranda** por sus horas dedicadas, sus consejos y su gran paciencia que siempre va acompañada de una sonrisa.

A todo el equipo que ha formado parte del “**Estudi DeFensas**”: a el Departament de Psicologia de la Facultat de Psicologia i Ciències de l’Educació de Tarragona, especialmente a **Fina Canals, Carmen Hernández y Núria Voltas**, a la Unitat de Pediatria y el Biobanc del Hospital Sant Joan de Reus, y a la Unitat de Nutrició Comunitaria i Salut Pública de la Facultat de Medicina i Ciències de la Salut de Reus, especialmente a **Victoria Abril, Estefania Aparicio, Cándido Fernández, Cristina Jardí y Blanca Ribot**.

A **Laboratorios Ordesa** por ayudarnos a hacer realidad el estudio proporcionándonos las leches fortificadas.

Y sobre todo a las familias han confiado en nosotros y a sus **bebés** que tan buenos ratos nos han hecho pasar.

Y por último, también agradecer a todos los que han participado en la parte personal de este proyecto, a mi familia, Tati, Ángel y mi principito Àlex!, y amigos, a Núria por todo lo vivido desde el primer “OciDeFensas”, a Sara, Eva, Blanca y Carmeta. A Luis por haberse unido al reto hace poco más de un año y ofrecerme una bocanada de energía positiva todas las mañanas. Pero muy especialmente a mi padre, por su soporte incondicional, sus mimos culinarios y por su lucha silenciosa de estos siete años contra la ausencia de mi madre.

**De tot cor, mil gràcies!**



# RESUMEN



## RESUMEN

**Introducción:** Es necesario un estado en hierro adecuado para que pueda realizarse el correcto desarrollo del niño. La prevalencia de déficit de hierro en menores de 3 años es alrededor del 20% en países desarrollados y su efecto en el desarrollo del bebé está poco estudiado.

**Objetivo:** Valorar el desarrollo del niño durante el primer año de vida en función del tipo de lactancia realizada durante el primer semestre y en función de la dosis de hierro administrada durante el segundo semestre, en lactantes de nuestro entorno.

**Sujetos y métodos:** Estudio longitudinal de intervención efectuado en 129 niños seguidos desde el nacimiento hasta el año de vida. A los 6 meses se realizó un ensayo clínico aleatorio con dos tipos de leche fortificada en hierro (baja: 0,44 mg/100 ml y alta: 1,16 mg/100 ml de leche).

Al nacer se determinó la ferritina sérica (FS) y los parámetros antropométricos (peso, talla y perímetro craneal). A los 6 y 12 meses, además de la antropometría, se estudió el estado en hierro a través de los parámetros clásicos: Hematocrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Volumen Corpuscular Medio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Media (HCM), Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM), Hierro sérico, FS, Transferrina sérica, Saturación de Transferrina ; y a través de un parámetro emergente: Hefcidina sérica. Se valoró el desarrollo cognitivo del lactante mediante el Índice de Desarrollo Mental (IDM) y el índice de Desarrollo Psicomotor (IDP) de la Escala de Bayley. Se determinaron las mutaciones C282Y, H63D y S65C del gen HFE.

**Resultados:** El nivel de FS al nacer es de  $268,64 \pm 129,85 \mu\text{g/L}$ . El 39,5% (IC 95%: 31,1 - 47,9) tienen algún tipo de mutación en el gen HFE. La prevalencia de déficit de hierro y anemia ferropénica es del 4.5% y 17.3% a los 6 meses y del 9.2% y 4.2% a los 12 meses, respectivamente. A los 6 meses, el 16,5% de los niños toman lactancia materna exclusiva, el 20,3% lactancia mixta y el 63,2% lactancia artificial.

A los 6 meses, observamos que las niñas presentan valores más elevados de Ht, Hb, VCM y HCM que los niños. Los niños de 6 meses alimentados con lactancia

artificial presentan mayores niveles de hepcidina (34,67 vs. 50,26 ng/mL) y menores porcentajes de déficit de hierro (15 vs 0%) y anemia ferropénica (31,6 vs. 6.3%), respecto a los niños con lactancia materna y/o mixta.

A los 12 meses, los niños alimentados con la leche fortificada con dosis alta de hierro presentan mayor talla (76,18 vs. 74,56 cm), menor porcentaje de déficit de hierro (6.6 vs. 20,8%) y de anemia ferropénica (2,2 vs. 12,5%) y mayor puntuación en el IDM (99,19 vs. 92,04), respecto a los alimentados con la dosis baja de hierro.

A los 12 meses, los factores que aumentan la puntuación del IDM son: la mayor talla al nacer, la realización de lactancia materna exclusiva durante los 6 primeros meses y la ingesta de leche alta en hierro de los 6 a los 12 meses.

Los parámetros que aumentan la puntuación del IDP a los 12 meses son: el sexo masculino, la presencia de alteraciones en el gen HFE, la lactancia materna exclusiva durante los 6 primeros meses, el aumento de peso y los mayores niveles de Hb y FS a los 6 meses.

**Conclusiones:** La lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses de vida aumenta el índice de desarrollo mental y psicomotor a los 12 meses en los niños de nuestra población. Además, la ingesta de leche fortificada con dosis alta en hierro durante el segundo semestre de vida también favorece una mayor puntuación del índice de desarrollo mental y proporciona menor porcentaje de déficit de hierro y de anemia ferropénica a los 12 meses.

# ÍNDICE



# ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>1</b>
<b>RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS .....</b>	<b>5</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>1. CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL NIÑO SANO.....</b>	<b>13</b>
1.1 Desarrollo físico .....	13
1.2 Desarrollo psicomotor .....	15
1.3 Desarrollo cognitivo .....	18
<b>2. NECESIDADES Y RECOMENDACIONES NUTRICIONALES GENERALES</b>	
<b>DURANTE EL PRIMER AÑO DE VIDA .....</b>	<b>20</b>
2.1 Energía .....	20
2.2 Proteínas .....	22
2.3 Grasas .....	22
2.4 Hidratos de Carbono .....	23
2.5 Agua .....	24
2.6 Minerales .....	24
2.7 Vitaminas .....	24
<b>3. ALIMENTACIÓN INFANTIL.....</b>	<b>25</b>
3.1 Alimentación de los 0 a los 6 meses.....	25
3.1.1 Lactancia materna.....	25
3.1.1.1 Características y composición nutricional .....	26
3.1.1.2 Beneficios de la lactancia materna .....	32
3.1.2 Lactancia artificial .....	34
3.1.3 Lactancia mixta .....	37
3.2 Alimentación a partir de los 6 meses.....	37
2.2.1 Alimentación complementaria o <i>Beikost</i> .....	37
2.2.2 Calendario de incorporación de alimentos .....	38

<b>4. ESTADO NUTRICIONAL EN HIERRO .....</b>	<b>42</b>
4.1 Distribución y funciones del hierro en el organismo .....	42
4.2 Metabolismo del hierro .....	43
4.2.1 Aporte de hierro al organismo: absorción intestinal .....	43
4.2.1.1 Hierro dietético .....	44
4.2.1.2 Entrada del hierro dietético en el enterocito .....	46
4.2.1.3 Hierro inorgánico o no hemo .....	47
4.2.1.4 Hierro hemo .....	48
4.2.1.5 Transferencia de hierro a la circulación sanguínea .....	48
4.2.2 Transporte de hierro .....	49
4.2.3 Captación celular de hierro .....	51
4.2.3.1 Vía dependiente de la transferrina .....	51
4.2.3.2 Vía independiente de la transferrina .....	53
4.2.4 Depósitos de hierro .....	55
4.2.4.1 Ferritina .....	55
4.2.4.2 Hemosiderina .....	57
4.2.5 Excreción .....	58
4.2.6 Regulación del metabolismo .....	59
4.2.6.1 Factores dietéticos .....	59
4.2.6.2 Factores biológicos .....	63
4.2.6.3 Factores genéticos .....	64
4.2.6.3.1 HFE .....	65
4.2.6.3.2 Alteraciones del gen HFE .....	66
4.2.6.4 Marcador emergente: Hefcidina .....	69
<b>5. ESTADO EN HIERRO Y DESARROLLO COGNITIVO DEL NIÑO .....</b>	<b>72</b>
<b>6. METODOS DE VALORACIÓN DEL ESTADO BIOQUÍMICO EN HIERRO .....</b>	<b>75</b>
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>81</b>
<b>SUJETOS Y MÉTODOS .....</b>	<b>85</b>

<b>1. DISEÑO DEL ESTUDIO .....</b>	<b>87</b>
<b>2. SUJETOS DEL ESTUDIO.....</b>	<b>88</b>
<b>3. PROCEDIMIENTO.....</b>	<b>89</b>
<b>4. MÉTODOS UTILIZADOS.....</b>	<b>90</b>
4.1 Historia clínica .....	90
4.1.1 Medidas antropométricas.....	91
4.1.2 Test de Apgar .....	92
4.2 Valoración de los hábitos alimentarios .....	93
4.3 Obtención, preparación y conservación de las muestras sanguíneas.....	93
4.4 Determinaciones bioquímicas del estado en hierro.....	94
4.4.1 Criterios utilizados de déficit de hierro y anemia .....	95
4.5 Determinación de la hepcidina.....	95
4.6 Determinación de mutaciones en el gen HFE .....	96
4.7 Determinación del desarrollo psicológico .....	97
<b>5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>97</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>99</b>
<b>1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO .....</b>	<b>101</b>
1.1 Características generales de la madre .....	101
1.2 Características generales del niño durante el primer año de vida .....	101
1.2.1 Parámetros antropométricos .....	102
1.2.2 Hábitos alimentarios.....	104
1.2.3 Estado bioquímico del hierro.....	106
1.2.4 Hpcidina.....	108
1.2.5 Desarrollo cognitivo.....	113
<b>2. DESARROLLO DEL NIÑO SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO A LOS 6 Y 12 MESES .....</b>	<b>114</b>
2.1 Desarrollo del niño según el estado en hierro a los 6 meses.....	114
2.2 Desarrollo del niño según el estado en hierro a los 12 meses.....	117

<b>3. ESTADO EN HIERRO A LOS 6 Y 12 MESES EN FUNCIÓN DE ALTERACIONES EN EL GEN HFE .....</b>	<b>118</b>
<b>4. ESTUDIO LONGITUDINAL: TIPO DE LACTANCIA .....</b>	<b>121</b>
4.1 Evolución del tipo de lactancia durante el primer año.....	121
4.2 Introducción de alimentos según el tipo de lactancia.....	122
4.3 Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo a los 6 y 12 meses en función del tipo de lactancia .....	123
<b>5. ENSAYO CLÍNICO ALEATORIO: LECHE INFANTIL FORTIFICADA CON DOSIS ALTAS O BAJAS DE HIERRO .....</b>	<b>129</b>
5.1 Introducción de alimentos según el tipo de leche fortificada en hierro ....	129
5.2 Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo al inicio y final de la intervención según el tipo de leche fortificada en hierro .....	131
5.3 Efecto del tipo de lactancia y del tipo de leche fortificada en hierro sobre el desarrollo del lactante al final de la intervención .....	135
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>139</b>
1. Frecuencia de la lactancia materna e introducción de alimentos .....	143
2. Estado bioquímico del hierro .....	145
3. Hpcidina.....	147
4. Gen HFE .....	149
5. Efecto del ensayo clínico sobre el desarrollo del lactante .....	150
6. Limitaciones del estudio .....	153
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>155</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>159</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>185</b>
I. Información para los padres y hoja de consentimiento informado .....	187
II. Datos de contacto y datos relacionados con el embarazo .....	194

III. Datos sociodemográficos y antecedentes familiares .....	197
IV. Datos antropométricos y de seguimiento del niño .....	200
V. Cuestionarios de la visita de los 6 meses .....	202
VI. Cuestionarios de la visita de los 12 meses .....	206
VII. Aportaciones científicas .....	210
1. Aportaciones a congresos .....	210
2. Artículos científicos en fase de redacción .....	210

# ABREVIATURAS



**ABREVIATURAS**

AAP	<i>American Academy of Pediatrics</i>
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
apoTf	Apotransferrina
ARD	Agentes reductores dietéticos
$\beta 2\mu b$	$\beta 2$ microglobulina
BMP-6	Proteína morfogenética ósea 6
CFHT	Capacidad de fijación del hierro a la transferrina
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
DCT1	<i>Divalent Cation Transporter 1</i>
Dcytb	<i>Duodenal cytochrome B</i>
DHA	Ácido decosahexanoico
DMT1	<i>Divalent Metal Transporter 1</i>
ESPGHAN	<i>European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>
FMO	Flavinmonooxigenasa
FS	Ferritina sérica
GDF-15	Factor de diferenciación de crecimiento 15
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina corpuscular media
HCP1	<i>Heme Carrier Protein-1</i>
HH	Hemocromatosis hereditaria
HIP	Factor de transcripción inducible por hipoxia
Ht	Hematocrito

## Abreviaturas

IDM	Índice de desarrollo mental
IDP	Índice de desarrollo psicomotor
Ig	Inmunoglobulina
IMC	Índice de masa corporal
IREG1	<i>Iron-Regulated transporter 1</i>
LA	Lactancia artificial
Leche ↑ Fe	Leche fortificada con la dosis alta de hierro
Leche ↓ Fe	Leche fortificada con la dosis baja de hierro
LM	Lactancia materna
LMix	Lactancia mixta
MTP1	<i>Metal Transporter Protein</i>
NTBI	<i>Non-transferrin bound iron</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
RTf1	Receptor de transferrina 1
RTf2	Receptor de transferrina 2
RTfs	Receptor soluble de transferrina
SER	Sistema retículo endotelial
SNC	Sistema nervioso central
ST	Saturación de transferrina
TF	Transferrina sérica
VCM	Volumen corpuscular medio
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

## RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS



**RELACIÓN DE TABLAS**

Tabla 1. Reflejos primitivos del niño .....	16
Tabla 2. Requerimientos energéticos durante el primer año de vida en función del tipo de lactancia .....	21
Tabla 3. Composición de la leche madura de mujeres sanas .....	30
Tabla 4. Factores inmunológicos presentes en la leche materna .....	32
Tabla 5. Contenido en energía y nutrientes de las fórmulas infantiles de inicio y continuación.....	36
Tabla 6. Calendario recomendado de introducción de alimentos .....	41
Tabla 7. Contenido de hierro en la ración de alimento.....	45
Tabla 8. Factores dietéticos implicados en la absorción del hierro .....	62
Tabla 9. Principales alteraciones genéticas implicadas en el metabolismo del hierro .....	64
Tabla 10. Puntuaciones de los parámetros evaluados por el Test de Apgar .....	92
Tabla 11. Descripción de las características generales de la madre .....	101
Tabla 12. Datos antropométricos al nacer y a los 6 y 12 meses.....	103
Tabla 13. Meses de introducción de los alimentos.....	104
Tabla 14. Descriptiva del estado bioquímico del hierro a los 6 meses .....	106
Tabla 15. Descriptiva del estado bioquímico del hierro a los 12 meses.....	107
Tabla 16. Niveles de hepcidina según sexo y edad.....	108
Tabla 17. Descriptiva del IDM y IDP según edad y sexo .....	113
Tabla 18. Desarrollo del niño a los 6 meses según el estado en hierro a los 6 meses .....	115
Tabla 19. Desarrollo del niño a los 12 meses según el estado en hierro a los 6 meses.....	116
Tabla 20. Desarrollo del niño a los 12 meses según el estado en hierro a los 12 meses .....	117
Tabla 21. Frecuencia de alteraciones en el gen HFE .....	118
Tabla 22. Estado en hierro a los 6 meses según presencia o no de mutaciones en el gen HFE .....	119
Tabla 23. Estado en hierro a los 12 meses según presencia o no de mutaciones en el gen HFE .....	120
Tabla 24. Meses de introducción de alimentos según el tipo de lactancia hasta los 6 meses.....	122

Tabla 25. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo a los 6 meses en función del tipo de lactancia .....	124
Tabla 26. Antropometría, estado bioquímico del hierro y desarrollo cognitivo a los 12 meses en función del tipo de lactancia seguida hasta los 6 meses .....	125
Tabla 27. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo a los 12 meses en función del tipo de lactancia seguida hasta los 12 meses.....	127
Tabla 28. Efecto del tipo de lactancia sobre los niveles de hemoglobina a los 6 meses .....	128
Tabla 29. Meses de introducción de alimentos según el tipo de leche fortificada en hierro .....	129
Tabla 30. Porcentaje de niños que han realizado lactancia materna, mixta o artificial durante los 6 primeros meses .....	130
Tabla 31. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo al inicio de la intervención según el tipo de leche fortificada en hierro .....	131
Tabla 32. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo al final de la intervención según el tipo de leche fortificada en hierro .....	132
Tabla 33. Evolución de los parámetros antropométricos, bioquímicos del hierro y del desarrollo cognitivo durante la intervención.....	134
Tabla 34. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre el IMC al final de la intervención .....	135
Tabla 35. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre la hemoglobina al final de la intervención .....	136
Tabla 36. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre la ferritina sérica al final de la intervención.....	136
Tabla 37. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre la hepcidina al final de la intervención.....	137
Tabla 38. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre el índice de desarrollo mental al final de la intervención.....	137
Tabla 39. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre el índice de desarrollo psicomotor al final de la intervención.....	138

**RELACIÓN DE FIGURAS**

Figura 1. Representación de la proteína HFE.....	65
Figura 2. Mutación C282Y del gen HFE .....	67
Figura 3. Estructura de la hepcidina .....	69
Figura 4. Regulación hepatocelular de la expresión de hepcidina .....	71
Figura 5. Desarrollo cerebral y requerimientos de hierro .....	74
Figura 6. Diseño y desarrollo del estudio.....	90
Figura 7. Introducción de los alimentos de los niños de nuestro estudio.....	105
Figura 8. Relación entre los niveles de hepcidina con el estado de hierro a los 6 meses .....	109
Figura 9. Relación entre los niveles de hepcidina con el estado de hierro a los 12 meses.....	110
Figura 10. Niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses en función del tipo de lactancia.....	111
Figura 11. Niveles de hepcidina y su evolución de los 6 a los 12 meses en función del tipo de leche ingerida (alta o baja en hierro).....	112
Figura 12. Evolución de la lactancia durante el primer año de vida.....	121



# INTRODUCCIÓN



## INTRODUCCIÓN

### 1. CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL NIÑO SANO

El crecimiento es un proceso caracterizado por el aumento de las dimensiones corporales debido a un incremento del número y tamaño de las células. El desarrollo es un proceso fisiológico en el que se produce la diferenciación, maduración y organización de los tejidos y órganos que transformarán a lo largo del tiempo al recién nacido en adulto (Tojo y Leis, 2006).

Conocer el proceso de crecimiento y desarrollo permite optimizar el progreso del niño e identificar retrasos o anomalías (Needlman, 2004). Todos los niños tienen una secuencia de crecimiento y desarrollo similar, aunque el ritmo es variable de un niño a otro.

#### 1.1 Desarrollo físico

Durante el periodo de crecimiento de los tejidos y órganos se establecen tres fases diferenciadas: hiperplasia celular, que corresponde al estadio inicial de crecimiento, la hiperplasia-hipertrofia, período donde la división celular es menor y aumenta el volumen celular y la hipertrofia, fase en la que se alcanza la dotación celular adulta.

La representación gráfica del crecimiento sigue una curva sigmoidea con una velocidad máxima de crecimiento en el periodo perinatal y durante los dos primeros años de vida. Le sigue una etapa más lenta de crecimiento que se alarga de los 3 años hasta la pubertad y posteriormente vuelve a aumentar la velocidad de crecimiento dando lugar al estirón puberal hasta alcanzar la talla adulta (Tojo y Leis, 2006).

El periodo más intenso de crecimiento y desarrollo tiene lugar en la etapa fetal, donde se produce una elevada tasa de división celular. En las 12 primeras semanas de embarazo, el feto experimenta un crecimiento exponencial, y posteriormente éste pasa a ser lineal. El pico máximo de crecimiento de longitud se da entre la semana 16 y 30, y el crecimiento máximo de peso y perímetro craneal entre la semana 32 y 34.

Seguidamente será el primer año de vida del niño donde se producirá el máximo crecimiento postnatal. Al nacer, el peso puede disminuir hasta un 10% durante la primera semana de vida por la excreción del líquido extravascular y una alimentación insuficiente. Pero con la ingesta de leche de transición, más rica en grasa, y con la mejora de la succión del bebé, el aumento de peso a partir de las dos semanas y hasta el mes de vida es de aproximadamente 30 gramos por día. Esta velocidad de crecimiento continúa aumentado hasta el tercer y cuarto mes y a partir del sexto mes, la velocidad de crecimiento disminuye. A los 12 meses, el niño ha aumentado el 50% de su longitud, un 200% el peso y un 35% su perímetro craneal (Needlman, 2004).

El periodo de crecimiento puede verse afectado por algunos factores como infecciones, carencias o excesos de nutrientes. La etapa más vulnerable corresponde al desarrollo fetal y al primer año de vida, y el sistema que primero se verá afectado es el sistema nervioso central (SNC).

El crecimiento fetal y el del niño hasta los 6 meses está determinado por el estado físico y nutricional de la madre. Es decir, el aporte de nutrientes al niño será fundamental para su correcto desarrollo durante el primer semestre de vida, ya que, un factor como la hormona del crecimiento es deficiente durante este periodo de vida, por lo que el crecimiento depende en mayor parte de la ingesta nutricional (Tojo y Leis, 2006).

El recién nacido presenta 6 estados de conducta: sueño tranquilo, sueño activo, somnolencia, alerta, nervioso y llanto. La maduración neurológica supone periodos más largos de sueño. Hacia los 2 meses la mayoría de lactantes se despiertan dos o tres veces para alimentarse durante la noche, y algunos duermen hasta 6 horas seguidas. Respecto al llanto, se alcanza un máximo al mes y medio donde los lactantes pueden llorar hasta 3 horas al día y a los 3 meses se disminuye a una hora o menos.

El crecimiento es un proceso dinámico, y el análisis de los cambios producidos a lo largo del tiempo sobre el tamaño, la forma y la composición corporal permiten valorar el crecimiento del niño. Para valorar el crecimiento se determina el aumento de masa corporal mediante el peso, el crecimiento en longitud mediante la talla y el crecimiento cerebral mediante el perímetro craneal.

## 1.2 Desarrollo Psicomotor

El desarrollo psicomotor es la adquisición progresiva y perfeccionamiento de las funciones del sistema nervioso como la percepción, la motricidad, el lenguaje o las relaciones sociales. Es una sucesión de etapas, en las que una etapa anterior supone la base para la siguiente.

En el recién nacido, el sistema nervioso central es inmaduro, pero el sistema nervioso autónomo está más desarrollado, por lo que en el recién nacido se puede observar una serie de reflejos primitivos, mostrados en la tabla 1, que con el trascurso de los meses irán desapareciendo (Fernández-Álvarez, 2006).

Se supone un desarrollo psicomotor normal cuando el niño realiza las actividades adecuadas para su edad. Cuando se produce un retardo cronológico en una de las áreas del desarrollo nos encontramos ante una disociación del desarrollo. Con el tiempo este retardo se recupera sin dejar ningún tipo de secuela. Por ejemplo, es frecuente un retardo en la sedestación, el gateo o la marcha sin que esto implique una disfunción neurológica (Fernández-Álvarez, 2006).

**Tabla 1. Reflejos primitivos del niño**

REFLEJO	PERIODO	CARACTERÍSTICAS
Presión palmar	Hasta 6º mes	El recién nacido realiza una presión palmar cuando se le presiona la cabeza de los metacarpianos
Presión plantar	Hasta 9º-12º mes	Al tocar la cabeza de los metatarsianos se produce una flexión activa
Reflejo de Galant	Hasta 4º mes	Se realiza sosteniendo al niño sobre la palma de una mano y se realiza una estimulación paravertebral desde el vértice de la escápula hasta la cresta ilíaca. La respuesta es una incurvación del tronco hacia el lado estimulado, con aproximación de las extremidades.
Babkin	Hasta 6ª semana	Se produce apertura de la boca al presionar las palmas de las manos del bebé
Succión	Hasta 6º mes	
Búsqueda	Hasta 6º mes	Se explora tocando las comisuras labiales del bebé, entonces la lengua y la comisura se desvían hacia el lado del explorador
Acústicofacial	Desde el 10º día hasta el final de la vida	Se desencadena al dar una palmada cerca del oído del niño: éste cierra los ojos
Ópticofacial	Desde el 3er mes hasta el final de la vida	Al acercar la mano bruscamente a los ojos, el niño los cierra
Suprapúbico	Hasta 3er mes	Se presiona la sínfisis del pubis produciéndose una extensión aducción y rotación interna de las piernas
Cruzado	Hasta 6ª semana	Se observa cuando se realiza una presión de la rodilla del bebé contra el cotilo, con la pierna en flexión, apareciendo extensión de la pierna libre
Talón palmar	Patológico desde nacimiento	Al percutir la mano del bebé en máxima flexión dorsal se produce una extensión de toda la extremidad
Talón plantar	Hasta 3er mes	Se percute el pie en posición de máxima flexión y se produce una extensión de la pierna
Extensión Primitiva	Hasta 3er mes	Consiste en una extensión de las piernas al tocar la planta de los pies una extensión de las piernas al tocar la planta de los pies en un plano de apoyo en posición vertical

Marcha automática	Hasta 3er mes	
Respuesta tónico asimétrica del cuello	Desde el 2º hasta el 5º mes	Cuando se gira la cabeza, el brazo y la pierna de ese lado se extienden y los del lado opuesto se flexionan
Reflejo de Moro	Hasta 3º-4º mes	Se explora sosteniendo al bebé en posición supina desde atrás del tórax y cabeza, y se deja caer rápidamente la cabeza alrededor de 10º, se produce abducción de hombros y brazos, extensión de codos, seguida de abrazo. Las piernas se extienden y luego se flexionan

El desarrollo psicomotor durante el primer año se puede dividir en 3 etapas:

- *De 0 a 2 meses*

Durante los primeros meses de vida se produce un periodo de adaptación al ambiente y es cuando se establece un importante vínculo entre madre e hijo.

En el desarrollo motor grueso el niño mantiene la cabeza firme al final del segundo mes, así como, mantiene la presión palmar y mueve la cabeza en posición prona.

A nivel social es capaz de fijar la mirada en el rostro del examinador, sigue con la mirada objetos y en el área del lenguaje es capaz de vocalizar dos sonidos diferentes y reacciona ante estímulos acústicos.

- *De 2 a 6 meses*

Ésta es una etapa de muchos cambios ya que aumenta el control motor y el social. La relación padres-hijo mejora, aparecen sonrisas voluntarias y un mayor contacto ocular, ya que, el sistema visual va madurando, lo que propicia intercambios sociales más complejos.

A nivel motor mantiene la cabeza erguida al pasar a posición prona a sentada, se mantiene sentado con un leve apoyo o solo, junta la mano en la línea media, extiende los brazos para coger objetos y los transfiere de una mano a otra. En el momento en el que el lactante tiene la capacidad de mantener la cabeza estable al estar sentado puede comenzar a comer con cuchara.

A nivel de lenguaje realiza balbuceos monosilábicos y gorjeos.

- *De 6 a 12 meses*

A partir del sexto mes aumenta la movilidad y mejora la comprensión y el lenguaje. Así como disminuye la velocidad de crecimiento. Al inicio de este periodo se produce la erupción de los dientes lo que refleja una maduración esquelética. A nivel motor el niño es capaz de realizar la presión con pinza, de levantarse solo, mantenerse erguido y al final del primer año de vida es capaz de andar con o sin ayuda de un andador. Estos cambios se producen por una mayor mielinización y por el crecimiento cerebeloso. A nivel del lenguaje, el niño imita sonidos y balbucea con monosílabos y bisílabos.

### 1.3 Desarrollo Cognitivo

El proceso de desarrollo del SNC es muy rápido en el periodo prenatal y durante los primeros años de vida. A los 5 años ya ha alcanzado el 90% del peso de adulto y el 10% restante lo aumenta entre los 6 y 20 años.

En la maduración del SNC el último objetivo es la formación de sinapsis. Diferentes factores pueden influir sobre la formación del SNC y entre ellos la nutrición tiene un papel clave, ya que, una desnutrición durante el periodo de proliferación celular puede suponer un daño cerebral irreversible.

La formación del tubo neural tiene lugar durante el primer mes de gestación y durante los 4 siguientes meses se produce la diferenciación regional. Ya a las 12 semanas de gestación se puede detectar actividad cerebral (Needlman, 2004).

Durante los dos primeros meses de vida, los lactantes adquieren la capacidad de diferenciar entre patrones y colores. Pueden reconocer expresiones faciales como las sonrisas en caras diferentes. Y también pueden percibir objetos y acontecimientos como coherentes.

De los 2 a los 6 meses, el lactante aumenta la interacción con su entorno. Por ejemplo, durante la alimentación ya no se centra exclusivamente en la madre sino que se distrae con otras cosas. También aumenta el interés por su cuerpo, por lo que se explora las manos, se toca las orejas, las mejillas y los genitales.

Estas exploraciones le ayudan a comprender la relación causa-efecto, ya que aprende que los movimientos musculares generan sensaciones táctiles y visuales perceptibles.

A partir de los 6 meses y hasta el año de vida, el niño empieza llevándose todo a la boca pero poco a poco coge nuevos objetos, los inspecciona, los pasa de una mano a otra, los hace chocar entre ellos y finalmente se los lleva a la boca.

Alrededor de los 9 meses se establece la "constancia del objeto", donde el niño es capaz de persistir en la búsqueda de un objeto que desaparece y es capaz de encontrar objetos ocultos bajo un paño (Tojo y Leis, 2006).

## **2. NECESIDADES Y RECOMENDACIONES NUTRICIONALES GENERALES DURANTE EL PRIMER AÑO DE VIDA**

Los requerimientos nutricionales durante el primer año de vida son elevados debido al rápido crecimiento que se produce en este período. Estas necesidades engloban el metabolismo basal, excreción y acción dinámica específica de los alimentos y la actividad física la cual oscila entre 9 kcal/kg/día en los primeros meses de vida hasta 23 kcal/kg/día en el segundo semestre (Lázaro y Martín, 2010). Un déficit de nutrientes en esta etapa puede provocar efectos negativos en el desarrollo del niño (Olivares, 2007).

### **2.1 ENERGÍA**

Los requerimientos energéticos varían según el método utilizado para calcularlos. A partir de 19 estudios elaborados, Butte determinó que las necesidades energéticas podían oscilar entre 99 y 132 kcal/kg/día durante el primer año de vida. En 1985 se determinó que el requerimiento energético para un niño sano a término era de 5,6 kcal por gramo ganado (FAO/WHO/ONU, 1985). En cambio Butte midió el gasto energético y llegó a un coste energético de 4,8 kcal (Butte, 2005).

Las recomendaciones de 1985 del informe FAO/OMS/UNU actualmente han quedado obsoletas ya que son demasiado elevadas (FAO/WHO/ONU, 1985). Las recomendaciones nutricionales elaboradas por el Comité de Expertos Food and Nutrition Board de la National Research Council son las más utilizadas y establecen las raciones dietéticas recomendadas y la ingesta dietética de referencia para cubrir las necesidades del 97-98% de la población de referencia (National Research Council, 1989).

Hoy en día el aporte energético en lactantes durante el primer año se define mes a mes (Tabla 2) y oscila entre 110 kcal/k/día en el primer mes, hasta 78 kcal/k/día entre el noveno y duodécimo mes (Butte, 2005).

**Tabla 2. Requerimientos energéticos durante el primer año de vida en función del tipo de lactancia**

	EDAD (meses)	LM (kcal/d)	LA (kcal/d)	LM (kcal/kg/d)	LA (kcal/kg/d)
<b>NIÑOS</b>	0 a 1	504	470	110	120
	1 a 2	500	520	99	112
	2 a 3	503	573	90	106
	3 a 4	513	625	83	100
	4 a 5	528	675	77	96
	5 a 6	549	721	73	93
	6 a 9	600	812	70	91
	9 a 12	693	963	78	98
<b>NIÑAS</b>	0 a 1	512	448	110	120
	1 a 2	515	474	99	112
	2 a 3	523	504	90	106
	3 a 4	535	540	83	100
	4 a 5	549	585	77	96
	5 a 6	567	632	73	93
	6 a 9	614	726	70	91
	9 a 12	707	842	78	98

Datos de Butte, 2005. LM: lactancia materna; LA: lactancia artificial.

Estos valores se pueden considerar de forma universal, ya que, los niños durante el primer año de vida presentan una velocidad de crecimiento y una actividad física muy similar. No será así cuando los niños pertenezcan a zonas con elevados índices de infecciones o a ambientes que puedan ser fuente de estrés, ya que, sus requerimientos pueden estar alterados.

El metabolismo basal depende de la masa de tejidos activos, en el recién nacido el cerebro representa el 10% del peso y puede llegar a consumir hasta el 40% de la energía que necesita el organismo. El metabolismo basal de un lactante es muy elevado, 54 Kcal/m<sup>2</sup>/h, pero de forma progresiva irá disminuyendo (Olivares, 2007).

### 2.2 PROTEÍNAS

Las proteínas constituyen entre el 15 y el 20% de la masa corporal. El aporte proteico mínimo es el que equilibra las pérdidas nitrogenadas del organismo (Olivares, 2007).

Los requerimientos proteicos varían según el autor consultado. Según el *National Research Council Food and Nutrition Board* los requerimientos de proteínas entre el primer y el quinto mes, son de 2.2 g/kg/día, y entre el quinto y el duodécimo mes son de 1,6 g/kg/día (National Research Council, 1989). Según Formon y colaboradores oscila entre 1,98 g/kg/día durante el primer mes hasta 1,14 g/kg/día del noveno al duodécimo mes. Y según Dewey y colaboradores, los requerimientos en proteínas son entre 1,99 g/kg/día durante el primer mes, hasta 0,78 g/kg/día del noveno al duodécimo mes (Dewey et al., 1996).

Para cubrir las necesidades proteicas del niño se recomienda seguir una dieta equilibrada con un aporte del 10 al 12% de proteínas (Maldonado et al., 2010).

La leche materna contiene 0,9 g de proteína/dL pero la cantidad de proteínas va disminuyendo a lo largo de la lactancia, ya que, a medida que avanza el crecimiento del niño, las necesidades proteicas disminuyen.

Las proteínas procedentes de la leche materna son de fácil digestión y absorción. Los requerimientos en proteínas pueden variar entre niños alimentados con lactancia materna y los alimentados con lactancia artificial, ya que, estos últimos tendrán un mayor requerimiento debido a las diferencias en la utilización de la proteína procedente de fórmula respecto a la proteína de la leche materna (Heird, 2004).

### 2.3 GRASAS

La proporción de energía obtenida a partir de las grasas durante los cuatro primeros meses supone entre el 40- 55%, y a partir del quinto mes la proporción disminuye progresivamente hasta el 30-35% de energía obtenida por las grasas (Maldonado et al., 2010).

La recomendación en contenido de grasa, por parte de la Sociedad Europea de Pediatría, Gastroenterología, Hepatología y Nutrición (ESPGHAN) es de 4,4 a 6 g /100kcal, cubriendo así entre el 40 y el 55% de la energía diaria total. En cambio la American Academy of Pediatrics (AAP) recomienda 3,3 g/100kcal representando el aporte calórico de las grasas el 30% de la energía total.

La complejidad en el cálculo de las necesidades grasas está en determinar los requerimientos de ácidos grasos poliinsaturados. Tanto la ESPGHAN como la AAP recomiendan una relación 10:1 entre el ácido linoleico y ácido linolénico, ácidos grasos esenciales de la familia omega 6 y omega 3. Muchos ácidos grasos son precursores de compuestos necesarios para la regulación de la tensión arterial, la dilatación vascular, la integridad de las membranas y en funciones inmunológicas (Koletzko, 2005).

## 2.4 HIDRATOS DE CARBONO

La proporción de energía obtenida a partir de hidratos de carbono durante los cuatro primeros meses supone entre el 32 y el 48%, y a partir del quinto mes la proporción disminuye hasta el 55-60% de energía obtenida a partir de los hidratos de carbono.

Se recomienda que el aporte de hidratos de carbono de 8 a 12 g/100 kcal siendo la lactosa el principal disacárido sintetizado por la glándula mamaria de los mamíferos.

Por este motivo durante los 4 primeros meses de vida la ingesta de hidratos de carbono es en forma de lactosa. La lactosa es hidrolizada en glucosa y galactosa por la lactasa de la mucosa intestinal y se absorben los monosacáridos. La actividad enzimática de la lactasa está madura al nacer, con lo que es poco frecuente la malabsorción de lactosa en niños a término.

Entre el cuarto y sexto mes se empiezan a diversificar los hidratos de carbono, y se puede ingerir lactosa, dextrinomaltosa y almidón y a partir del sexto mes lactosa, dextrinomaltosa, almidón, fructosa y sacarosa, estos dos últimos con moderación para evitar que el niño se acostumbre al sabor dulce (Maldonado et al., 2010).

### 2.5 AGUA

El National Research Council recomienda en lactantes una ingesta de 150 ml/kg/día de agua, pero a los bebés no se les da un aporte adicional de agua, ya que, tanto la leche materna como la leche de fórmula presenta un contenido de agua de aproximadamente el 90%, por lo que el aporte hídrico lo reciben de la leche (National Research Council, 1989).

### 2.6 MINERALES

El mineral que suele presentar alguna deficiencia es el hierro. El contenido en hierro de la leche materna es bajo, pero los niños nacen con depósitos suficientes para afrontar el primer semestre de vida (Hallberg, 2001; Griffin y Abram, 2001; Domellöf, 2011). Por este motivo se recomienda un consumo de hierro durante los 6 primeros meses de 0.27 mg/día y de 11 mg/día de los 7 a los 12 meses (Thompson y Nelson, 2001).

### 2.7 VITAMINAS

Las carencias vitamínicas a esta edad son poco frecuentes. La leche materna únicamente es deficitaria en vitamina K, por este motivo, durante las primeras horas de vida del niño, se administra una dosis de 0.5-1 mg de vitamina K intramuscular.

Por otro lado, para evitar la aparición de hipovitaminosis D, en bebés con escasa exposición a la luz solar, la leche en fórmula se suplementa con vitamina D (Olivares y Bueno, 2006).

### **3. ALIMENTACIÓN INFANTIL**

La infancia es un periodo clave en la vida del niño en el que se establecen los hábitos nutricionales óptimos para obtener un correcto crecimiento y a la vez conseguir prevenir enfermedades relacionadas con la alimentación (AEP, 2010).

Existen diversas enfermedades que tienen una base genética en este período de edad como alergias, asma, diabetes y enfermedad celíaca, y se conoce que la expresión genética de dichas enfermedades está influida por la dieta (Mataix, 2008). Por este motivo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Sociedad Europea de Pediatría, Gastroenterología, Hepatología y Nutrición (ESPGHAN) entre otras organizaciones gubernamentales como el Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya han establecido unas recomendaciones basadas en la evidencia sobre alimentación infantil, y son realizar lactancia materna exclusiva durante el primer semestre de vida y a partir de aquí realizar de forma progresiva la introducción de alimentos.

#### **3.1 ALIMENTACIÓN DE LOS 0 A LOS 6 MESES**

La alimentación del recién nacido se debe iniciar lo más pronto posible, en las primeras horas del posparto o incluso en el parto. Ello favorece a mantener un metabolismo normal entre la transición de la vida fetal a la extrauterina y contribuye a crear el vínculo afectivo entre madre e hijo (Lázaro, 2010).

##### **3.1.1 LACTANCIA MATERNA**

La lactancia materna es la alimentación más beneficiosa que se le puede ofrecer a los recién nacidos ya que su composición esta adaptada a las necesidades nutricionales y de crecimiento de los lactantes (Maldonado, 2005). La leche materna no solo esta formada por nutrientes sino por un conjunto de sustancias bacteriostáticas, enzimas digestivas y factores de crecimiento y desarrollo. Los beneficios de la lactancia materna los podemos considerar como una estrategia de salud pública.

Se recomienda que la lactancia materna sea a demanda. Durante los primeros días de vida es importante ofrecer el pecho con mucha frecuencia, entre 8 y 12 veces al día y siempre que el bebé muestre signos de hambre como chupeteo, bostezo o movimientos de búsqueda. Es mejor ofrecer ambos pechos durante el tiempo que el bebé requiera, ya que el tiempo de la toma dependerá de la capacidad de succión de cada niño. Durante las primeras semanas de vida los lactantes que no muestran signos de hambre deben ser estimulados y despertados para ofrecerles el pecho al menos cada 4 horas (Hernández y Agudo, 2005).

Diversas organizaciones tanto nacionales como internacionales, entre ellas la OMS, la AAP y la ESPGHAN, recomiendan la lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses de edad, manteniéndola como mínimo hasta los 12 meses junto con la alimentación complementaria a partir del sexto mes.

Antes del 2001, la Organización Mundial de la Salud recomendaba que los niños fueran amantados de forma exclusiva durante los 4-6 primeros meses, con la introducción de alimentos a partir de este momento. A partir del 2001 y después de una revisión sistemática junto con la opinión de un comité de expertos, la recomendación se modificó, recomendando la lactancia materna exclusiva durante los 6 primeros meses de vida y alargándola hasta los 2 años o más (Fewtrell et al., 2007).

### **3.1.1.1 Características y composición nutricional de la leche materna**

La composición de la leche materna está adaptada a las limitaciones fisiológicas del tubo digestivo, del sistema renal y del metabolismo del recién nacido.

La leche materna proporciona las cantidades adecuadas de hidratos de carbono, siendo la lactosa el más abundante, proteínas como la caseína, la lactoalbúmina y la lactoferrina, ácidos grasos saturados, triglicéridos de cadena media, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, colesterol, vitaminas y minerales. El contenido en hierro de la leche materna es bajo, pero su biodisponibilidad es elevada (Pavón, 2007).

Para poder satisfacer las necesidades del recién nacido, la composición de la leche materna va variando su composición. El **calostro** es la leche producida durante los primeros 4-6 días después del nacimiento y en su composición presenta menos concentración energética, 671 kcal/L, y es rica en proteínas, entre ellas la Inmunoglobulina A y la lactoferrina, ácidos grasos esenciales, colesterol y factores de crecimiento intestinales. La leche producida desde el 6º al 15º día es la **leche de transición** con una composición intermedia entre el calostro y la leche madura. Presenta menor cantidad de inmunoglobulinas pero con más cantidad de lactosa, grasa y vitaminas. A partir de los 15 días del nacimiento ya se produce la **leche madura**, más energética, 700 kcal/L. La leche madura va variando a lo largo de la lactancia para poderse adaptar a los requerimientos del niño (Bueno et al, 2007). La composición nutricional de la leche madura se muestra en la tabla 3.

A lo largo de la toma, la composición de la leche también va cambiando, disminuye la cantidad de lactosa y aumenta la de proteína y grasa.

**Proteínas.** Al ser un componente básico para el desarrollo, la proporción de proteínas se adapta a las necesidades de crecimiento del lactante. El contenido total de proteínas medio es de 1,1 g /100 ml de leche materna. Las proteínas más abundantes son la caseína y las del suero, lactoalbúmina y lactoglobulina. La caseína aporta aminoácidos, calcio y fósforo al recién nacido y constituye entre el 10 y el 50% del total de las proteínas y el suero entre el 50 y el 90%. La concentración de proteínas del suero va descendiendo a lo largo de la lactancia. En el calostro la proporción suero caseína es de 90:10, proporción que en la leche madura llega a ser de 55:45 (Ballabriga y Carrascosa, 2006).

Entre las proteínas del suero no encontramos betalactoglobulina que si predomina en la leche de vaca y es una de las proteínas responsables de las reacciones alérgicas en lactantes alimentados con fórmulas lácteas infantiles.

La leche materna presenta otros constituyentes proteicos como las inmunoglobulinas, la lactoferrina y nucleótidos purínicos y pirimidínicos. La concentración de nucleótidos oscila entre 4 y 70mg/L y éstos tienen efectos beneficiosos sobre la flora intestinal lo que permiten una mayor biodisponibilidad del hierro. La lactoferrina tiene actividad bacteriostática y la capacidad de ligar hierro de forma irreversible. La concentración de lactoferrina en la leche materna va disminuyendo a lo largo del tiempo y es máxima durante la primera semana de lactancia.

**Hidratos de Carbono.** El contenido total es de 7g/100ml de leche materna. La lactosa es el hidrato de carbono predominante, representando un 90% del total, y su contenido aumenta a lo largo de la lactancia. La lactosa se sintetiza en las glándulas mamarias durante la lactancia y aporta el 40% de la energía total de la leche.

La lactosa promueve la proliferación intestinal de *Lactobacillus bifidus*, flora que aporta acidez al intestino e inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos.

La lactosa es un disacárido formado por glucosa y galactosa, ésta última tiene un papel importante como material plástico en la síntesis de galactocerebrósidos. Se conoce que la concentración de lactosa en los mamíferos es proporcional a la velocidad de crecimiento del cerebro.

Por otro lado, si comparamos el dulzor de la lactosa con el de otros azúcares vemos que es menos dulce y se ha sugerido que puede tener un papel protector frente a la obesidad, la diabetes, la caries dental y la aterosclerosis ya que puede influir en los hábitos alimentarios de niños mayores y adultos reduciendo el deseo por alimentos dulces.

En la leche materna se encuentran otros hidratos de carbono, oligosacáridos como fructosa, N-acetilglucosamina y ácido siálico. La concentración de ácido siálico en los gangliósidos cerebrales y glicoproteínas es superior en los alimentados con lactancia materna, y se correlaciona con el aprendizaje a la vez que favorece la sinaptogénesis y la diferenciación neuronal (Molina-Font y Valenzuela, 2006).

**Grasas.** El contenido total medio es de 3.8 g/100 ml de leche materna, el 98% de la grasa esta formada por triglicéridos y el resto son ácidos grasos libres, fosfolípidos, monoglicéridos, diglicéridos, colesterol y vitaminas liposolubles. Los ácidos grasos presentes en la leche materna cubren las necesidades de ácidos grasos esenciales del lactante.

Los ácidos grasos tienen un papel importante en la formación de estructuras del organismo, forman parte del cerebro, retina o de las membranas celulares y un déficit puede provocar alteraciones cutáneas y una disminución de la velocidad de crecimiento.

El contenido de ácidos grasos varía durante la lactancia, va aumentando la cantidad de ácido linoleico y linolénico y va disminuyendo la de ácido araquidónico y docosahexanoico de forma progresiva durante los tres primeros

meses de lactancia (Xiang et al., 2000). Estos niveles se mantendrán durante el resto de la lactancia.

El 40% de los ácidos grasos de la leche materna son saturados. El estado nutricional de la madre así como su alimentación es lo que determina la cantidad total de lípidos en la leche materna. El contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n-3 y n-6 oscila según la dieta, la cantidad de ácido docosahexanoico (DHA) viene determinada por la cantidad de pescado que se consume, y una dieta rica en hidratos de carbono facilita una mayor incorporación de ácidos grasos de cadena corta y media así como fosfolípidos en la leche materna (Ballabriga y Carrascosa, 2006).

La grasa se excreta hacia el final de la toma de lactancia. Por este motivo la leche es inicialmente aguada y al secretarse la grasa se vuelve más cremosa. Esto permite que el lactante no se sacie hasta el final de la toma y pueda seguir succionando (Molina-Font y Valenzuela, 2006).

**Vitaminas y minerales.** La leche materna proporciona la cantidad suficiente de vitaminas y minerales para cubrir las necesidades del lactante. Solo hay una excepción y se da con la vitamina K, la cual se administra a todos los recién nacidos de forma parenteral (ESPGHAN, 2008).

La concentración de calcio de la leche materna es relativamente baja, pero su absorción se ve favorecida por la proporción Ca/P de la leche. Con el hierro sucede algo similar, su contenido puede parecer bajo pero éste tiene una biodisponibilidad muy elevada con lo que la leche materna cubre las necesidades de hierro del lactante hasta el 4º - 6º mes.

**Hormonas y enzimas.** La leche materna contiene hormonas sintetizadas por la glándula mamaria o bien transportadas desde la circulación materna. Entre ellas se encuentran hormonas hipofisarias (prolactina, gonadotrofinas), tiroideas, calcitonina, estrógenos y factores de crecimiento. En la leche materna tienen un papel destacado la lipasa, responsable de iniciar la digestión de triglicéridos en el estómago, y la amilasa que favorece la digestión de almidones.

Tabla 3. Composición de la leche madura de mujeres sanas (g/100mL)

<b>Proteínas (g/dL)</b>		
	Caseína (% total)	40
	Proteínas del suero (% total)	60
<b>Aminoácidos (mg/dL)</b>		
	<b>Esenciales</b>	
	Arginina	45
	Histidina	22
	Isoleucina	68
	Leucina	100
	Lisina	73
	Metionina	25
	Fenilalanina	48
	Treonina	50
	Triptófano	18
	Valina	70
	<b>No esenciales</b>	
	Alanina	35
	Ácido aspártico	116
	Cistina	22
	Ácido glutámico	230
	Glicina	0
	Prolina	80
	Serina	69
	Tirosina	61
<b>Lactosa (g/dL)</b>		
		7
<b>Lípidos (g/dL)</b>		
		3,5
<b>Ácidos grasos (%) del total</b>		
	<b>De cadena media</b>	
	C10 (ácido cáprico)	1,5
	C12 (ácido láurico)	7
	<b>De cadena larga saturados</b>	
	C14 (ácido mirístico)	8,5
	C16 (ácido palmítico)	21
	C18 (ácido esteárico)	7
	C20 (ácido aráquico)	1
	<b>No saturados</b>	
	C16:1 (ácido palmitoleico)	2,5
	C18:1W9 (ácido oleico)	36
	C18:2W6 (ácido linoleico)	7
	C18:3W3 (ácido linolénico)	1
	C20:4W6 (ácido linolénico)	0,5
<b>Minerales (unidades/L)</b>		
	Calcio (mg)	340
	Fósforo (mg)	140
	Sodio (mEq)	7
	Potasio (mEq)	13
	Cloro (mEq)	11

Magnesio (mg)	40
Azufre (mg)	140
Cromo (microg)	40-80
Manganeso (microg)	7 a 15
Cobre (microg)	400
Cinc (mg)	3 a 5
Yodo (microg)	30
Selenio (microg)	13-50
Hierro (mg)	0,5
Flúor (microg)	5-50
Molibdeno (microg)	0,1-1,7
<b>Vitaminas (unidades/L)</b>	
Vitamina A (UI)	1898
Vitamina B1 (microg)	100
Vitamina B2 (microg)	360
Niacina (microg)	1470
Vitamina B6 (microg)	100
Pantotenato (mg)	1,84
Ácido fólico (microg)	52
Vitamina B12 (microg)	0,3
Vitamina C (mg)	4,3
Vitamina D (UI)	22
Vitamina E (mg)	1,8
Vitamina K (microg)	15

Fuente: adaptado de Molina-Font y Valenzuela, 2006

**Factores inmunológicos y defensivos.** La leche materna no solo está formada por nutrientes sino que a la vez contiene un conjunto de elementos defensivos que se clasifican en agentes antimicrobianos, agentes promotores del crecimiento de microorganismos protectores, leucocitos, agentes antiinflamatorios (antioxidantes y ácido úrico) y agentes inmunoestimulantes (AGPI y Interleuquina 6) (Ballabriga y Carrascosa, 2006).

Como agentes antimicrobianos destacan la lactoferrina, la lisozima y las inmunoglobulinas. La lisozima tiene actividad bacteriostática, se encuentra en la leche materna a una concentración 300 veces superior que en la leche de vaca y se detecta en las deposiciones de lactantes alimentados con leche materna pero no en los alimentados con fórmula. Las inmunoglobulinas (Ig) presentes en la leche materna son la IgA, IgG, IgM, IgD y IgE. En el calostro se encuentra una elevada concentración de IgA siendo su concentración máxima el segundo día post parto. En la tabla 4 se muestran los factores inmunológicos de la leche materna.

**Tabla 4. Factores inmunológicos presentes en la leche materna**

Factores inmunológicos de la leche materna
Ig A
Ig G, Ig M
Complemento (factores C1 y C4)
Lactoferrina. Lactoperoxidasa
Lisozima. Interferón
Factor bifidus (prebióticos y probióticos)
Carbohidratos
Proteínas transportadoras (B12, folatos)
Prostaglandinas
Macrófagos
Linfocitos T
Linfocitos B
Leucocitos polimorfonucleares

Entre los agentes promotores del crecimiento de microorganismos destaca el factor *lactobacillus bifidus* que favorece la presencia de *L. bifidus* en la flora intestinal del lactante el cual produce ácido acético y láctico inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas.

Entre el 40-50% de los leucocitos de la leche materna son macrófagos, el 40-50% neutrófilos y el 5-10% linfocitos. Los macrófagos sintetizan prostaglandinas, lisozima, fagocita microorganismos y sintetizan componentes del complemento de histocompatibilidad.

El 80% de los linfocitos son del tipo T y el 20% son linfocitos B, éstos últimos con un papel defensivo más específico ya que son productores de Inmunoglobulina A (Ruiz-Bravo y Jiménez, 2010).

### 3.1.12 Beneficios de la lactancia materna

La lactancia materna es la nutrición más beneficiosa y segura para el lactante. La leche materna proporciona ventajas nutricionales, inmunológicas, psicológicas y económicas.

Los nutrientes que componen la leche materna se adaptan correctamente a la fisiología del tracto digestivo del recién nacido. Esta correcta adaptación facilita la digestión, la absorción de principios inmediatos y disminuye el riesgo de vómitos y diarreas.

Múltiples componentes de la leche materna favorecen el sistema inmunitario del recién nacido, lo que permite que los lactantes alimentados con leche materna tengan menor incidencia de infecciones y enfermedades alérgicas. Se ha estudiado la relación entre tipo de lactancia e incidencia de infecciones respiratorias y digestivas en lactantes, siendo éstas más frecuentes en niños alimentados con lactancia artificial.

Por otra parte, también se está analizando el papel protector de la leche materna contra la diabetes infantil y la obesidad infantil, aunque hay resultados contradictorios sobre esta relación. En el caso de la obesidad, Kries et al. encontraron entre niños de 5 a 6 años que solo el 0,8% de los niños alimentados con lactancia materna durante 12 meses eran obesos frente un 4,5% de obesidad entre los niños que nunca habían recibido leche materna (von Kries et al., 1999).

Hay que tener en cuenta también que la lactancia materna refuerza el vínculo psicoafectivo entre madre e hijo. A su vez, varios estudios han demostrado la relación entre el seguimiento de la lactancia materna y un mejor desarrollo cognitivo (Lozoff et al., 2006a; Szajewska et al., 2010).

También se ha visto que la incidencia del síndrome de muerte súbita del lactante es inferior en niños alimentados con leche materna, con una relación dosis respuesta, es decir, a mayor tiempo de lactancia materna menor riesgo de muerte súbita (Lozano, 2010).

A largo plazo, la lactancia materna puede favorecer la adaptación a la alimentación complementaria ya que a través de la leche materna el niño recibe aromas y sabores de la dieta de la madre, mientras que en la leche de fórmula el sabor siempre es el mismo (AEP, 1999).

A nivel económico, la lactancia materna es más económica que la leche en fórmula. A la vez, el riesgo de padecer más enfermedades si no se alimenta al lactante con leche materna provoca un aumento del gasto sanitario.

Por otra parte, se ha estimado que una madre puede dedicar un total de 500 horas al año en lavar y desinfectar biberones, lo que contribuye a la contaminación ambiental junto con el gasto energético y los residuos generados como latas, plásticos o papel de los envases (AEP, 1999).

De forma generalizada persisten, en todos los países, bajas tasas de inicio de lactancia materna y la duración media es corta. Son frecuentes los abandonos precoces, lo que implica pérdidas en la protección de la salud tanto del lactante como de la madre. Esta situación supone un importante problema de salud pública que exige la implantación de programas de promoción y apoyo a la lactancia materna y requiere el soporte de autoridades y profesionales sanitarios.

Síntomas de ansiedad materna o depresión posparto, sensación de hipogalactia y pezones doloridos o agrietados pueden ocasionar el abandono de la lactancia o la introducción de la lactancia artificial. Un seguimiento adecuado puede ayudar a detectar estos síntomas y corregirlos a tiempo puede suponer una lactancia materna más satisfactoria y duradera.

A menudo, una ganancia de peso por debajo de lo esperado se traduce en la introducción precoz de leche artificial u otro tipo de alimentos, sin tener en cuenta otros signos que ayuden a evaluar la situación del lactante y a continuar con la lactancia materna (Hernández y Agudo, 2005).

### **3.1.2 LACTANCIA ARTIFICIAL**

Cuando no es posible llevar a cabo la lactancia materna, la alternativa para alimentar al recién nacido es la lactancia artificial. Las fórmulas lácteas infantiles son productos industriales elaborados para substituir de forma parcial o total la leche materna. Se fabrican a partir de leche de vaca adaptándola con la finalidad de simular lo máximo posible a la leche materna.

La leche en fórmula se fabrica en polvo o líquida. La leche en polvo es la más utilizada, es de fácil conservación y preparación y su composición es constante.

La leche infantil líquida no requiere preparación y evita los posibles errores que se pueden dar en la reconstitución de la leche en polvo aunque su conservación es más compleja y su precio más elevado.

Diferentes organismos internacionales como los comités de nutrición de la ESPGHAN y la AAP han establecido normativas y recomendaciones sobre las características que han de presentar las fórmulas infantiles y que deben cumplirse.

Existen dos tipos de fórmulas lácteas infantiles para lactantes sanos: leche de inicio y leche de continuación. La **leche de inicio** cubre las necesidades nutricionales del recién nacido entre los 0 y los 6 meses. Proporciona entre 60 y 75 kcal/100 ml, lactosa como principal hidrato de carbono, proteínas, grasas animales y vegetales, vitaminas y minerales. En el caso del hierro, la cantidad oscila entre 0,3 y 1 mg/100 ml de leche de inicio.

La **leche de continuación** está formulada para ser consumida a partir de los 6 meses de edad, pero a diferencia de la leche de inicio, esta no cubre totalmente los requerimientos nutricionales del lactante por lo que es necesario complementar la ingesta con otros alimentos. Energéticamente es similar a la leche de inicio, entre 60 y 85 kcal/100 ml. La composición también es similar en cuanto a proteínas y grasas, y entre los hidratos de carbono se encuentra la lactosa pero también dextrinomaltosa, almidón, harinas, miel o fructosa. La leche de continuación se suplementa con sales ferrosas, entre 0,7 y 1,44 mg de hierro por cada 100 ml de leche.

En la tabla 5 se muestra la composición nutricional de la leche de inicio y la leche de continuación.

En el lactante, los procesos digestivos como la absorción intestinal, la actividad enzimática y la función renal excretora van madurando. Por este motivo a partir de los 6 meses ya no es necesario ofrecerle leche de inicio, sino que pueden empezar a tomar leche de continuación, la fabricación de la cual es más sencilla y es algo más económica.

En el mercado también se encuentran fórmulas lácteas específicas para niños prematuros o indicadas para alguna enfermedad como la alergia o intolerancia a proteínas de leche de vaca, diarrea o reflujo gastroesofágico.

**Tabla 5. Contenido en energía y nutrientes de las fórmulas infantiles de inicio y continuación. (Valores/100 kcal)**

	FORMULAS DE INICIO	FORMULAS DE CONTINUACIÓN
Energía (kcal/dl)	60-70	60-70
Proteínas (g)	1,8-3	1,8-3,5
Grasas (g)	4,4-6	4,1-6,4
Ácido linoleico (g)	0,3-1,2	0,3-1,2
Glúcidos (g)	41883	41883
<b>Minerales</b>		
Calcio (mg)	50-140	50-140
Cinc (mg)	0,5-1,5	0,5-1,5
Cloro (mg)	50-160	50-160
Cobre (µg)	35-80	35-100
Fósforo (mg)	25-90	25-90
Hierro (mg)	0,3-1,3	0,6-2
Magnesio (mg)	42125	42125
Potasio (mg)	60-160	60-160
Sodio (mg)	20-60	20-60
Yodo (µg)	18537	18537
<b>Vitaminas</b>		
A (UI)	200-600	200-600
Ácido fólico (µg)	18537	18537
Ácido pantoténico (µg)	400-2000	400-2000
B12 (µg)	0,1-0,5	0,1-0,5
B6 (µg)	35-175	35-175
Biotina (µg)	1,5-7,5	1,5-7,5
C (mg)	11171	11232
D (UI)	40-100	40-120
E (UI)	0,7-7,5	0,7-7,5
K (µg)	45748	45748
Niacina (µg)	80-400	80-400
Riboflavina (µg)	80-400	80-400
Tiamina (µg)	60-300	60-300

Fuente: Adaptado de Moya, 2005.

### 3.1.3 LACTANCIA MIXTA

La lactancia mixta es la combinación de la lactancia materna con la artificial de forma simultánea. Esta situación se da por hipogalactia, cuando la madre no tiene suficiente leche para alimentar al niño o cuando, por motivos laborales u otros, la madre no puede ofrecer la lactancia durante todo el día.

La administración de la lactancia mixta puede ser por *método coincidente* cuando primero se le ofrece lactancia materna y luego leche en fórmula, o bien por *método alternante* donde en una toma el niño recibe leche materna y en la siguiente fórmula láctea.

El inconveniente del método alternante es que favorece la agalactia ya que disminuye la estimulación del pecho que mantiene la producción de leche.

## 3.2 ALIMENTACIÓN A PARTIR DEL LOS 6 MESES

### 3.2.1 ALIMENTACIÓN COMPLEMENTARIA O *BEIKOST*

La introducción progresiva de alimentos sólidos, semisólidos o líquidos que no son leche materna o fórmula láctea es lo que se denomina alimentación complementaria. Esta transición en la alimentación infantil también se denomina con la palabra alemana *beikost*. El *beikost* finaliza cuando el niño recibe una alimentación similar a la familiar.

El inicio de la alimentación complementaria implica la maduración del tracto gastrointestinal y de la capacidad de absorción de nutrientes. A la vez, la función renal del niño ya permite mayor carga osmolar y también implica el desarrollo en el niño de los factores mecánicos necesarios para coordinar la deglución y la masticación.

La lactancia proporciona los nutrientes necesarios para cubrir los requerimientos del niño hasta el primer año de vida, pero a partir de los 6 meses puede darse un déficit en micronutrientes como el hierro. Por este motivo la alimentación complementaria se inicia alrededor de los 6 meses en la lactancia materna y entre los 4 y 6 meses en niños alimentados con fórmula láctea.

Las características y duración del *beikost* difieren según la zona geográfica y las diferencias son más evidentes entre países industrializados y en vías de desarrollo.

Un ejemplo es la edad recomendada para la introducción de la leche de vaca. La mayoría de países recomienda introducir la leche de vaca a los 12 meses, pero en Canadá, Suecia o Dinamarca la recomendación es entre los 9 y 10 meses. La leche de vaca es un alimento pobre en hierro, por ese motivo se retrasa la introducción hasta el año de vida ya que se ha observado que una ingesta superior a 500 ml de leche al día puede provocar un déficit de hierro (Gunarsson, 2004).

La cantidad de alimento proporcionada irá aumentando de forma progresiva a medida que avanza la edad del niño. La ESPGHAN recomienda que la alimentación complementaria a los 6 meses no proporcione más de un 50% de la energía diaria y recomienda también no iniciar el Beikost antes de la semana 17 y no más tarde de la 26 (ESPGHAN, 2008).

### 3.2.2 Calendario de incorporación de alimentos

En el período de *Beikost* el tipo de los alimentos y el orden con el que deben darse viene determinado por factores geográficos, culturales, disponibilidad de nutrientes y nivel socioeconómico y cultural de la familia.

No existe un consenso sobre si el *Beikost* debe iniciarse con cereales o fruta, aunque si hay unanimidad en que los alimentos nuevos se deben introducir de forma individualizada y progresiva. La tendencia es empezar ofreciendo papillas de cereales aunque los lactantes con sobrepeso podrían iniciar la alimentación complementaria con la fruta triturada.

**Cereales.** Las papillas de cereales deben introducirse poco a poco aumentando la cantidad progresivamente y ofrecerlas con cuchara. Inicialmente se elaboran con harina de cereales sin gluten (arroz, maíz, soja, tapioca...) y más adelante se ofrecen mezclas con cereales con gluten (trigo, cebada, centeno, avena).

**Fruta.** Alimento rico en agua, vitaminas y fibra lo que le confiere un papel importante en la regulación del tránsito intestinal. El consumo de fruta se puede iniciar con zumos y posteriormente con puré de fruta como manzana, plátano o pera. Se debe ofrecer frutas variadas pero evitando la más alergénicas como son la fresa, melocotón, kiwis o frutas exóticas.

**Verduras.** Al igual que las frutas son un alimento rico en agua, vitaminas, minerales y fibra. El contenido de celulosas y otras fibras en la verdura ayuda al peristaltismo intestinal del lactante. Las verduras deben ir ofreciendo poco a poco en forma de puré. Inicialmente con patata, zanahoria, apio, puerro, calabaza, calabacín o judías verdes. Se deben evitar las verduras flatulentas como la col, remolacha o nabo y también las verduras más ricas en nitratos como espinacas o acelgas.

En el puré de verduras no debe adicionarse sal pero si un poco de aceite de oliva en crudo.

**Carne.** La introducción de carne en la dieta del niño supone un consumo de proteína de alto valor biológico y es fuente de hierro y vitaminas del grupo B. Se debe iniciar la introducción de carne con pollo y progresivamente ternera, cordero y cerdo.

**Pescado.** También es un alimento que aporta proteínas de alto valor biológico, ácidos grasos insaturados y minerales como yodo, fósforo y hierro. Se recomienda introducir el pescado en la dieta en el noveno mes, por el alto poder alergénico que este alimento presenta y el riesgo de contaminación que tiene el pescado. Se debe empezar introduciendo el pescado blanco (merluza, lenguado, rape...) por ser menos graso.

**Huevo.** Es otro de los alimentos con elevado poder alergénico por lo que se recomienda introducir la yema a los 10 meses y el huevo entero a partir de los 12 meses, siempre cocido. El huevo es rico en ácidos grasos y proteínas, hierro y vitaminas.

**Legumbres.** Son fuente de proteínas, aunque de menor valor biológico que la proteína animal y se deben introducir a partir del décimo mes ya que pueden contener nitratos.

**Lácteos.** A partir de los 10 meses se pueden introducir en la dieta derivados de la leche de vaca como el yogurt, requesón, queso fresco o cuajada. Son fuente de proteínas, contienen menos lactosa que la leche y favorecen el crecimiento de la flora intestinal lo que favorece al tránsito intestinal. El consumo de leche de vaca debe retardarse hasta el año de vida, ya que su composición puede provocar una carga renal en el lactante.

Para los niños alimentados con lactancia materna, el calendario de introducción de alimentos recomendado se detalla en la tabla 6.

En un estudio realizado en 5 países europeos, han visto como la introducción de alimentos difiere entre Alemania, Bélgica, Italia, Polonia y España. Aunque en todos ellos se recomienda no iniciar el *Beikost* antes de los 4 meses, un 15,8% de los lactantes belgas alimentados con fórmula láctea introducen alimentos sólidos a los 3 meses, y un 55,6% a los 4 meses. También es en Bélgica donde los niños amamantados introducen antes los alimentos sólidos, un 43.2% a los 4 meses (Schiess et al., 2010).

Aunque las recomendaciones para la alimentación complementaria son las mismas para niños alimentados con leche materna o con fórmula láctea, se observa que son estos últimos los que antes inician el *Beikost* (Schiess et al., 2010).

En el 2008 se realizó un estudio en población catalana, donde se observaron hábitos alimentarios inadecuados en la etapa de introducción de alimentos como finalizar la lactancia materna antes de los 4 meses o la introducción precoz de leche de vaca, derivados lácteos, legumbres, huevo o gluten. Estos errores pueden provocar una situación de riesgo nutricional que se puede evitar siguiendo las recomendaciones establecidas (García-Algar, 2009).

Tabla 6. Calendario recomendado de introducción de alimentos

	ALIMENTOS	EDAD DE INCORPORACIÓN (meses)	
<b>Lácteos</b>	Leche materna	0	
	Leche de inicio	0	
	Leche de continuación	6	
	Yogur natural	10	
	Queso fresco o tierno	10	
	Leche entera	12	
	Queso semicurado o curado	12	
	Flan, Natillas,...	12	
<b>Fruta</b>	Zumo natural y fruta triturada	6	
	Fruta troceada	8	
	Frutos secos triturados	12	
	Frutos secos enteros	3 años	
	Frutas rojas o exóticas	18	
<b>Cereales</b>	Harina sin gluten	6	
	Harina con gluten	7	
	Sémola de arroz o pasta	8	
	Pan y galletas	8	
	Pasta fina y arroz	10	
	Cereales de desayuno	24	
<b>Verdura</b>	Puré fino	6	
	Puré espeso	9	
	Tomate sin piel cocido	10	
	Verdura troceada (1)	12	
	Verdura flatulenta (2)	18	
<b>Carne, Pescado y Huevo</b>	Pollo, pavo, conejo, ternera, cerdo magro	7	
	Caballo, potro, cordero, jamón curado, embutidos magros	12	
	Embutidos y charcutería	24	
	Pescado blanco	9	
	Pesado azul	18	
	Marisco (gambas, calamares, mejillones)	24	
	Yema de huevo	10	
	Huevo entero	12	
	<b>Legumbres</b>	Puré de legumbres	10
		Legumbres enteras	12
<b>Aceites</b>	Aceite de Oliva crudo	6	
	Aceite cocido	12	
<b>Otros</b>	Azúcar, miel, mermeladas, sal	12	
	Hierbas aromáticas	12	
	Cacao y chocolate	18	

(1): Calabacín, calabaza, cebolla, judía verde, patata, zanahoria

(2): col, coliflor, alcachofa, espárragos

Fuente: Departament de salut de la Generalitat de Catalunya, 2005.

#### 4. ESTADO NUTRICIONAL EN HIERRO

El hierro es un elemento esencial para la función del organismo. La principal función del hierro es el transporte de oxígeno pero también tiene un papel importante en el metabolismo celular.

El hierro tiene dos estados de oxidación, ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ) y férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) y tiene la capacidad de donar y aceptar electrones lo que le permite ser cofactor de enzimas. El hierro en exceso también puede ser tóxico ya que puede generar radicales libres y estos dañar a componentes biológicos como lípidos, proteínas o DNA (Olivares et al., 2010).

##### 4.1 DISTRIBUCIÓN Y FUNCIÓN DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

El hierro corporal se encuentra distribuido en tres compartimentos: el funcional, el de transporte y el de reserva (Arija et al., 2006; Bothwell, 1995).

En el compartimento funcional el hierro se encuentra en proteínas como la hemoglobina o la mioglobina y formando parte de sistemas enzimáticos que requieren hierro como cofactor o grupo prostético. Aproximadamente el 65% del hierro lo encontramos formando parte de la hemoglobina, el 4% se encuentra en los músculos como mioglobina y un 11% lo contienen las enzimas y citocromos.

El compartimento de transporte está formado por transferrina, proteína específica transportadora de hierro en sangre desde el sistema retículoendotelial y el intestino hasta los tejidos. La transferrina presenta dos puntos de unión para el hierro y según los átomos de hierro que transporta la podemos encontrar en forma monoférrica o diférrica. El recambio de los átomos de hierro en la transferrina es rápido, de 60 a 90 minutos. El tiempo de recambio viene determinado por la concentración plasmática de hierro y por la actividad eritropoyética de la médula ósea. El hierro presente en este compartimento representa entre 0,1-0,2 % del hierro total.

El hierro de reserva representa entre el 20-30% del total y se encuentra depositado en el sistema retículoendotelial y en las células parenquimatosas

hepáticas como ferritina o hemosiderina. La ferritina en la mucosa intestinal tiene la capacidad de regular la absorción de hierro, evitando así la entrada de hierro al plasma cuando los depósitos son abundantes, ya que un exceso del mineral puede resultar nocivo. El hierro obtenido de la muerte celular se reutiliza o bien se dirige al compartimiento de reserva.

El contenido corporal de hierro en una persona sana es aproximadamente de 3,5 a 4 g de hierro en la mujer y de 4 a 5 g en el hombre (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

Un adulto sano puede ingerir por dieta entre 10-20 mg de hierro, del cual absorbe aproximadamente el 10%. A la vez se producen pérdidas de hierro basales por descamación de las células intestinales, sudoración, orina, heces, bilis y descamación de las células de la piel. Existen también pérdidas fisiológicas como las producidas por la menstruación o el embarazo y situaciones patológicas que suponen pérdida de sangre. A diario un adulto pierde entre 0,5-2 mg de hierro. Se estima que en niños de 0 a 2 años las pérdidas son de 0,04 mg/kg y de 2 a 8 años de 0,03 mg/kg (Olivares, 2010).

## **4.2 METABOLISMO DEL HIERRO**

### **4.2.1 APOORTE DE HIERRO AL ORGANISMO: ABSORCIÓN INTESTINAL**

En un individuo normal, las necesidades diarias de hierro son muy bajas en comparación con el hierro circulante, por lo que sólo se absorbe una pequeña proporción del total ingerido. La cantidad absorbida varía de acuerdo con la cantidad y el tipo de hierro presente en los alimentos, el estado de los depósitos corporales del mineral, las necesidades, la actividad eritropoyética y una serie de factores lumbinales e intralumbinales que interfieren o facilitan la absorción (Forrellat et al., 2000).

El balance de hierro en el organismo se mantiene en unos márgenes estrechos, regulado a través de la absorción intestinal, que puede aumentar o disminuir la cantidad absorbida según diversas situaciones para cubrir las necesidades de hierro.

El proceso de absorción del hierro puede dividirse secuencialmente en dos etapas, una la entrada del hierro dietético en el enterocito, y la otra el paso del hierro del enterocito a la circulación.

### **4.2.1.1 Hierro dietético**

Las dietas habituales de las poblaciones occidentales aportan entre 10 y 20 mg de hierro al día. Existe dos tipos de hierro en la dieta: el hierro hemo, pertenece a la familia de las porfirinas y se encuentra formando parte de la hemoglobina y mioglobina. Este tipo de hierro se absorbe muy bien, pero representa una pequeña fracción del total de la dieta. Por otro lado, el hierro no hemo (o hierro inorgánico) lo encontramos como hidróxido de hierro, sales de hierro o proteínas férricas. El hierro no hemo se encuentra de forma abundante en los alimentos, pero su absorción es mucho menor y depende de varios factores dietéticos y fisiológicos.

El hierro hemo está presente en la sangre, las vísceras y el tejido muscular (carne y pescado) y suele representar un 40% del total contenido en el alimento. Tiene una alta biodisponibilidad ya que se absorbe aproximadamente entre un 15 y un 40% del ingerido dependiendo del estado nutricional de hierro y su absorción no se ve apenas influenciada por otros factores dietéticos. Por el contrario, el hierro no hemo está contenido tanto en los alimentos de origen animal como vegetal, y su absorción varía ampliamente (entre menos del 1% hasta el 40%) siendo muy influenciada por factores dietéticos y biológicos. Este tipo de hierro es el que se utiliza en la fortificación de alimentos (Arija y Viteri, 2006). En la tabla 7 se muestra el contenido de hierro en varios de ellos.

Tabla 7. Contenido de hierro en la ración de alimentos

ALIMENTOS	HIERRO (mg)	RACIÓN (g)	ALIMENTOS	HIERRO (mg)	RACIÓN (g)
<b>VERDURAS</b>			<b>PESCADOS</b>		
Verduras congeladas	3,3	250	Almejas	9,1	65
Verduras enlatadas	2,4	250	Mejillón cocido	5,5	70
Verdura fresca	1,7	220	Sepia	5,1	150
<b>LEGUMBRES</b>			Atún crudo	1,7	150
Judías blancas, lentejas, garbanzos, guisantes y habas	2,3	70	Cigala	1,5	100
<b>FRUTA</b>			Sardina en aceite	1	40
Frutas secas	5	100	Salmón fresco	1	140
Fruta fresca y en almíbar	1,3	150	Atún en aceite	0,7	60
Frutos secos	1,2	40	Lenguado, merluza	0,4	145
Aceitunas	0,3	25	<b>PRODUCTOS LACTEOS</b>		
<b>CARNES Y HUEVOS</b>			Queso fresco	0,3	90
Caballo	5,9	150	Quesos secos, grasos	0,3	35
Codorniz	3,6	90	Leche entera	0,2	200
Vísceras	2,7	140	Yogurt natural	0,1	125
Cordero	2,2	11	<b>CEREALES Y PASTAS</b>		
Pavo, pollo, conejo	1,5	130	Arroz integral crudo	1,4	85
Ternera	1,5	120	Copos de Avena	1,3	30
Cerdo	1,4	115	Pasta alimentaria cruda	1,1	60
Huevos	1,3	70	Arroz blanco crudo	0,5	85
Embutidos	0,6	50			

Fuente: Adaptado de García-Lorda, 2000.

Diversos trabajos han estudiado la biodisponibilidad de algunos alimentos o de una comida completa mediante la utilización de la técnica del hierro marcado isotópicamente. En este sentido cabe resaltar que la absorción de hierro de las espinacas o de las judías blancas es muy baja (1-3%) en comparación con la del hígado, la carne (12-22%) o la morcilla que contiene aproximadamente 0,4 mg de hierro por cada ml de sangre en ese alimento (Layrisse et al., 1971).

La principal diferencia entre el metabolismo del niño y del adulto está dada por la dependencia que tienen los primeros del hierro proveniente de los alimentos. En

los adultos, aproximadamente el 95 % del hierro necesario para la síntesis de la hemoglobina proviene del reciclaje del hierro de los hematíes senescentes. En contraste, un niño entre los 4 y 12 meses de edad, utiliza el 30 % del hierro contenido en los alimentos con este fin, y la tasa de reutilización a esta edad es menos significativa (Dallman y Simes, 1985).

### 4.2.1.2 Entrada del hierro dietético al enterocito

El hierro se absorbe de forma activa en las células epiteliales del duodeno y primera porción del yeyuno, decreciendo su absorción hasta la parte distal del intestino.

El epitelio intestinal se organiza en una estructura de pliegues aumentando así la superficie de absorción. Además, la superficie de estos pliegues no es lisa, sino que se encuentra recubierta por unas evaginaciones de 0,5 a 1 mm de altura, que multiplican por ocho la superficie de absorción. En estas vellosidades se pueden distinguir dos partes fundamentales, una, la más próxima a la luz intestinal, que es la vellosidad propiamente dicha, y otra, más profunda con relación a la luz que son las llamadas criptas de Lieberkühn (Ariznavarreta, 1999).

En las criptas se encuentran las células juveniles indiferenciadas cuya función será básicamente reguladora. Una vez maduros y transformados en enterocitos adultos, ascienden desde las criptas hasta las vellosidades donde realizarán la función de absorción. Los enterocitos maduros poseen además las llamadas "microvellosidades" con lo que aumentan en 20 veces la superficie interior del intestino.

El enterocito maduro tiene dos superficies: la apical, es la que se encuentra en contacto con la luz intestinal y contiene las microvellosidades que constituyen el llamado borde del cepillo. En esta membrana es donde se producirá la absorción del hierro de la dieta. La superficie laterobasal o basolateral es la que está en contacto con los vasos sanguíneos y es por donde pasará el hierro a la circulación.

Del total del hierro aportado por la dieta occidental (10-20 mg al día), únicamente se absorbe 1-2 mg (aproximadamente el 10% del total), de los cuales 2 terceras partes deriva del grupo hemo (hierro hemo), mientras que el resto es hierro inorgánico (hierro no hemo). Tanto el hierro hemo como el hierro

inorgánico son absorbidos en la membrana apical de los enterocitos duodenales a través de diferentes mecanismos como veremos a continuación.

#### 4.2.1.3 Hierro inorgánico o no hemo

El hierro no hemo de la dieta se encuentra principalmente en su forma oxidada ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Éste es insoluble en soluciones con pH mayor a 3, por lo que en el estómago, por su bajo pH, se forman complejos solubles del metal que aumentan su disponibilidad para ser absorbido en el duodeno. Por otra parte, en el lumen del intestino se forman cantidades variables de iones ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ) como consecuencia de la reducción del hierro férrico por agentes de la dieta (Agentes Reductores Dietéticos: ARD) y por una enzima ferrereductasa (Dcytb) (Duodenal cytochrome B) que se expresa en la superficie apical del enterocito, concretamente en el reborde del cepillo (McKie et al., 2000). La expresión de Dcytb aumenta en situaciones de déficit de hierro e hipoxia, consiguiendo así un importante papel en la captación de hierro en la membrana apical (Andrews, 2005).

En consecuencia, ambos iones (ferroso y férrico) pueden presentarse ante las células intestinales (Pérez et al., 2005b).

La absorción de los iones ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ) a través de la membrana apical del enterocito es facilitada por el transportador de metales divalentes DMT1 (Divalent Metal Transporter 1) también conocido como DCT1 (Divalent Cation Transporter 1) o Nramp2 (Natural Resistance Associated macrophage protein 2), que es una proteína de membrana que se encuentra en muchas células del organismo (Fleming et al., 1997; Gunshin et al., 1997). Mientras que en las células intestinales el DMT1 se encuentra concretamente en las células de las vellosidades e interviene en el transporte del hierro desde la luz intestinal al enterocito, en el resto de las células interviene en el paso del hierro del endosoma al citoplasma (Andrews, 1999).

Los iones férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ) pueden ser absorbidos vía una proteína de membrana miembro de la familia de las integrinas, la  $\beta$ 3-integrina. Luego, son transferidos a la proteína chaperona mobilferrina (Conrad et al., 1993) formando un gran complejo proteico citoplasmático llamado paraferitina (Conrad y Umbreit, 2002) que contiene hierro,  $\beta$ 3integrina, mobilferrina,  $\beta$ 2 microglobulina ( $\beta$ 2 $\mu$ b) y la enzima

Flavinmonooxigenasa (FMO). Este complejo macromolecular tiene actividad ferrireductasa y lleva a cabo la reducción del hierro (Pérez et al., 2005b).

#### 4.2.1.4 Hierro hemo

Este tipo de hierro atraviesa la membrana celular como una metaloporfirina intacta después de haber sido separada de la globina a través de las proteasas endoluminales o de la membrana del enterocito. Este paso lo realiza a través de una proteína transportadora de grupo hemo descubierta recientemente (HCP1) (Heme Carrier Protein-1) (Shayeghi et al., 2005).

Parece ser que el anillo de porfirina es el responsable de la alta absorción del hierro hemo en comparación con el hierro no hemo (South et al., 2000). Sin embargo, otros autores (Fly y Czarnecki-Maulden, 2000) atribuyen este efecto a la porción proteica de la molécula de hemoglobina puesto que es posible que los péptidos de la digestión de la globina puedan mejorar la biodisponibilidad del hierro a través de un aumento en su solubilidad. Una vez en el citosol del enterocito, el hierro es liberado del anillo de porfirina a través de la acción de la hemoxigenasa (Carpenter CE y Mahoney, 1992).

Aunque el hierro hemo representa una pequeña proporción del hierro total de la dieta (10-15%), su absorción es mucho mayor y se ve menos afectada por los componentes de ésta (Hallberg et al., 1991).

#### 4.2.1.5 Transferencia del hierro a la circulación sanguínea

Una vez el hierro en su forma reducida está dentro del enterocito ( $Fe^{2+}$ ), puede ser almacenado en forma de ferritina y excretado en las heces cuando se produce la descamación de los enterocitos senescentes o bien es transportado a través de la membrana basolateral hacia el plasma, a través de una proteína de membrana transportadora llamada Ferroportina (Donovan et al., 2000), también encontrada en la literatura como IREG1 (Iron-Regulated transporter 1) (McKie et al., 2000) o MTP1 (Metal Transporter Protein) (Abboud y Haile, 2000). Esta proteína es hasta el momento el único exportador de hierro no hemo conocido de las células animales.

La proteína de membrana hefaestina o bien la proteína plasmática ceruloplasmina promueven la oxidación del hierro gracias a su actividad ferroxidasa, facilitando de esta manera su incorporación a la transferrina circulante (Vulpe et al., 1999).

Mientras que el paso del hierro hemo y el hierro no hemo desde el lumen del intestino al interior del enterocito es diferente entre ellos, se cree que la exportación basolateral del hierro a través del enterocito es común para ambos (Anderson et al., 2005).

Sin embargo, lo que no está claro es si el grupo hemo se metaboliza totalmente a hierro inorgánico en las células epiteliales intestinales, o si existe una parte que pasa a la circulación intacto (Andrews, 2005). Si el grupo hemo intacto se exportara del enterocito a la circulación, lo podría hacer a través de la acción de uno de los dos nuevos exportadores de grupo hemo descubiertos recientemente: FLVCR o Bcrp (Krishnamurthy et al., 2004; Quigley et al., 2004). Si esto ocurriera, la consecuente disposición del grupo hemo en plasma, es todavía desconocida.

#### 4.2.2 TRANSPORTE DE HIERRO

La concentración de hierro en plasma de un individuo adulto normal oscila alrededor de 1,5 µg/ml. Está predominantemente unido a la transferrina sérica y en pequeña proporción a la albúmina o a especies de bajo peso molecular.

El hierro es transportado por la transferrina o siderofilina, que es una proteína plasmática que se encuentra también en otros fluidos de los vertebrados, tales como líquido cefalorraquídeo, leche y semen (Pérez et al., 2005a). Es una glicoproteína de aproximadamente 80 kDa de peso molecular, constituida por una única cadena polipeptídica a la que se unen hidratos de carbono formando dos ramas idénticas y casi simétricas. Se sintetiza en el hígado y posee 2 dominios homólogos de unión para el hierro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) (Huebers y Finch, 1987).

La transferrina capta el hierro liberado por los macrófagos producto de la destrucción de los glóbulos rojos o el dietético procedente de la absorción intestinal, y lo transporta para hacerlo disponible a todos los tejidos que lo requieren (Wick et al., 1996).

Para que la unión con hierro pueda establecerse, se requiere que simultáneamente se una un anión. Por cada ión férrico que se incorpora, se liga concomitantemente un anión carbonato o bicarbonato y se liberan, aproximadamente, tres protones (Pakdaman y EI Hage Chahine, 1996). La existencia de una cooperatividad recíproca entre la unión del ión metálico y la del anión

indica que la transferrina tiene un estricto requerimiento del anión sinergista para facilitar la unión con el hierro. La función del anión sería la de actuar como ligando reforzador de la unión entre la proteína y el metal. A pH fisiológico, en presencia de ión bicarbonato y en ausencia de agentes quelantes, el hierro se une a cualquiera de los dos sitios de la transferrina humana (Aisen y Listowsky, 1980).

Se le denomina apotransferrina (apoTf) a la proteína que no contiene hierro, transferrina monoférrica cuando contiene un átomo de hierro y diférrica cuando contiene dos.

Cuando todos los sitios de transporte están ocupados se habla de transferrina saturada y se corresponde con alrededor de 1,41  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de transferrina (Haupt et al., 1990). Normalmente, el 70% de la transferrina plasmática no está saturada con el metal esencial y, por lo tanto, la reserva total de esta proteína actúa como amortiguador frente a grandes cantidades de hierro absorbido o liberado, las que de otra manera, resultarían tóxicas cuando el metal está libre en su estado oxidado.

En situaciones de saturación de la capacidad de transporte de transferrina, el hierro puede unirse a otros ligandos, como citrato, constituyendo el llamado pool de hierro no unido a transferrina (NTBI, *non-transferrin bound iron*) (Pérez et al., 2005a).

La vida media normal de la molécula de transferrina es de 8 a 10 días, aunque el hierro que transporta tiene un ciclo más rápido, con un recambio de 60 a 90 minutos como promedio (Lee et al., 1998).

Del total de hierro transportado por la transferrina, entre el 70 y el 90 % es captado por las células eritropoyéticas (Finch et al., 1982) y el resto es captado por los tejidos para la síntesis de citocromos, mioglobina, peroxidasas y otras enzimas y proteínas que lo requieren como cofactor.

Además de la transferrina sérica, existen otros dos tipos de transferrinas: la lactoferrina o lactotransferrina, presente en algunas secreciones de los mamíferos (leche, lágrimas, jugo pancreático) y en contenidos intracelulares de leucocitos y la ovotransferrina, presente en las secreciones de los oviductos de aves y reptiles y en la clara de huevo. Estos miembros de la familia desempeñan un rol importante en la defensa contra las infecciones, restringiendo la disponibilidad de hierro para el metabolismo microbiano (Van Eijk y De Jong, 1992).

### 4.2.3 CAPTACIÓN CELULAR DE HIERRO

Los mecanismos de entrada de hierro en las células presentan algunas diferencias dependiendo de su actividad biológica. Se ha visto como en el enterocito la entrada está mediada por DMT1. El resto de células utilizan un sistema de transporte específico que puede ser dependiente o independiente de transferrina.

#### 4.2.3.1 Vía dependiente de la transferrina

Todos los tejidos y células de los mamíferos poseen un receptor específico para la transferrina (RTf1), a través de cuya expresión en la superficie celular, regulan la captación del hierro de acuerdo con sus necesidades. Estos RTf1 se expresan en mayor número en las células hepáticas, de placenta y en los progenitores eritroides (eritroblastos) (Beguin, 1992). En los eritroblastos se encuentra el 80 % del total de los receptores del cuerpo, donde el hierro es captado por las mitocondrias para ser incluido en las moléculas de protoporfirina durante la síntesis del grupo hemo. A medida que se produce la maduración del glóbulo rojo, la cantidad de receptores va disminuyendo, debido a que las necesidades de hierro para la síntesis de la hemoglobina son cada vez menores (Gimferrer et al., 1996).

El número de receptores es aproximadamente constante en las células en reposo, pero aumenta marcadamente durante la proliferación celular.

El número y estabilidad de los receptores de transferrina (RTf1) en la superficie celular son los primeros determinantes de la captación del hierro. Estos receptores no sólo son importantes para facilitar el acceso del metal esencial a la célula sino que cumplen, además, un rol crítico en la liberación del hierro del complejo con transferrina en el interior celular.

El RTf1 es una glicoproteína constituida por 2 subunidades, cada una de 90 kDa de peso molecular, unidas por dos puentes disulfuro. Cada subunidad posee un sitio de unión para la transferrina, por lo que cada molécula de RTf1 posee capacidad para unir dos moléculas de transferrina (Huebers y Finch, 1987). Estos receptores se encuentran anclados en la membrana a través de un dominio transmembrana, que actúa como péptido señal interno, y poseen además un dominio citosólico de aproximadamente 5 kDa (Ponka, 1999).

Se ha observado la presencia de moléculas de receptor circulando en el plasma sanguíneo, que son incapaces de unirse a la transferrina, puesto que carecen de sus porciones transmembranas y citosólicas. A estos receptores se les conoce como Receptores Solubles de Transferrina (RTfs). A pesar de su incapacidad de unirse a la transferrina, se ha encontrado una relación directa entre la concentración de RTfs y el grado de eritropoyesis. Así, en la deficiencia de hierro hay un aumento de la concentración de receptores solubles (Cook et al., 1993; Thorstensen y Romslo, 1993).

El receptor de transferrina desempeña un papel fundamental en el suministro de hierro a la célula, puesto que la afinidad del receptor por el complejo hierro-transferrina al pH ligeramente alcalino de la sangre, depende de la carga de hierro de la proteína. La afinidad máxima se alcanza cuando la transferrina está en su forma diférrica (Wick et al., 1996).

El hierro transportado por la transferrina ingresa a las células a través de un proceso mediado por el RTf1. El primer paso es la unión de transferrina al receptor en la membrana. A pH 7,4, el RTf1 posee muy baja afinidad por la apotransferrina, intermedia por la transferrina monoférrica y cuatro veces más elevada por la transferrina diférrica.

El complejo hierro-transferrina-receptor es internalizado en la célula a través de un proceso de endocitosis. El cambio de cargas resultante de la unión del hierro y el bicarbonato con liberación de protones, estaría relacionado con esta afinidad diferencial de los receptores por la transferrina según su grado de saturación con hierro. El pH del interior de compartimento endosomal oscila alrededor de 5,5 debido a la acción de una bomba de protones dependiente del ATP presente en su membrana, la cual bombea protones desde el citosol al interior del endosoma. A este pH, el hierro es liberado del complejo transferrina-RTf1 como ión férrico. La unión cooperativa metal-bicarbonato no sólo es importante para la asociación del hierro a la transferrina sino también, para su liberación. La unión anión-transferrina, relativamente lábil, parece proveer un mecanismo para la remoción fisiológica del hierro. El carbonato se desaloja primero y, por ello, la unión metal-transferrina es fácilmente desestabilizada, produciéndose la liberación del hierro mientras que la proteína permanece intacta (Aisen y Listowsky, 1980).

Posteriormente el metal es reducido por una ferrireductasa endosomal y transportado al citoplasma por el transportador de cationes divalentes DMT1 (Fleming et al., 1998; Gruenheid et al., 1999).

En contraste con la mayoría de los ligandos que se disocian de su receptor y entran en una ruta de fusión con lisosoma y degradación, la elevada afinidad del RTf1 por la apotransferrina a pH ácido los mantiene unidos (Young y Bromford, 1994). El complejo apotransferrina-RTf1 es transportado intacto hacia la membrana plasmática donde, al tomar contacto nuevamente con el medio extracelular de pH neutro, se disocia. La apoproteína queda entonces disponible para captar nuevamente hierro y comenzar otro ciclo de transporte e internalización (Wick et al., 1996).

Una vez en el citoplasma, el ión ferroso incorporado puede seguir tres destinos:

- El pool de utilización, es decir, las proteínas celulares que requieren hierro
- El pool de almacenamiento, constituido principalmente por ferritina y hemosiderina
- El pool regulador, el cual incluye a las proteínas encargadas de detectar variaciones en los niveles intracelulares del metal.

Existe un segundo receptor de transferrina, denominado RTf2 y que se expresa predominantemente en el hígado que codifica para una proteína de membrana que posee el 45% de identidad con el RTf1 en su dominio extracelular. Este receptor, también puede unir transferrina a nivel de membrana y mediar la incorporación celular del hierro, pero esta afinidad por la transferrina es mucho menor (West et al., 2000).

Así pues, las células pueden controlar la captación del hierro mediante dos receptores para transferrina diferentes: el RTf1, de mayor afinidad, cuya expresión es regulada por los niveles celulares de hierro y el RTf2, de baja afinidad, que se expresa dependiendo del ciclo celular o del estatus proliferativo de las células (Kawabata et al., 2000).

#### **4.2.3.2 Vía independiente de la transferrina**

El mecanismo de incorporación de hierro mediado por la transferrina ha sido considerado durante mucho tiempo como la única vía de ingreso del metal a las células. Sin embargo, se ha demostrado la existencia de un sistema de captación de hierro independiente de transferrina (Sturrock et al., 1990).

Prácticamente todo el hierro plasmático circula unido a transferrina y el hierro libre es prácticamente indetectable, pero en desórdenes caracterizados por la sobrecarga de hierro, los sitios de unión de la proteína al metal se encuentran saturados y, bajo estas condiciones, el nivel de hierro no unido a transferrina puede alcanzar concentraciones micromolares. En estas situaciones, la disponibilidad de la apotransferrina es insuficiente para cumplir con la distribución de hierro a las células y, por ello, el metal circula en plasma en forma de complejos de bajo peso molecular y es removido mediante un sistema de transporte independiente de transferrina (Sturrock et al., 1990).

En el entorno celular, el hierro se encuentra generalmente presente en estado oxidado. Han sido aisladas e identificadas dos proteínas (una de membrana y otra citosólica) involucradas en la captación de iones férricos por la vía independiente de transferrina. Éstas poseen tamaño molecular y características inmunológicas similares a las proteínas  $\beta$ 3-integrina y mobilferrina, caracterizadas como mediadoras de la captación de hierro en las células de la mucosa intestinal las cuales carecen de receptor de transferrina en su superficie absorbente (Conrad et al., 1994) (ver absorción de hierro no hemo).

Por otra parte, se ha descrito un mecanismo para la incorporación de iones ferrosos, el cual también podría traslocar el hierro presente en estado férrico, dependiendo de un paso previo de reducción (Jordan y Kaplan, 1994; Attieh et al., 1999). La actividad ferrireductasa sería, por tanto, la limitante de la velocidad del proceso (Randell et al., 1994).

La proteína transportadora transmembrana ha sido identificada en células eritroides de ratones normales y anémicos como la DMT1, proteína ya descrita anteriormente como mediadora de la absorción de iones ferrosos dietéticos por parte de los enterocitos (Canonne-Hergaux et al., 2001).

La incorporación de hierro no unido a transferrina ha sido caracterizada como un proceso saturable, cuya actividad no es mediada por endocitosis y no parece ser afectada por cambios en la tasa de crecimiento celular (Kaplan et al., 1991).

En presencia de concentraciones adecuadas de transferrina, esta ruta probablemente transporte cantidades mínimas de hierro y sirva como un mecanismo para que otros metales ingresen en las células sin competir con él (Conrad et al., 1994; Pérez et al., 2005a). Sin embargo, en aquellas situaciones en las que la concentración de hierro en plasma exceda la capacidad de unión de la

transferrina circulante, la vía independiente de transferrina adquiriría un papel esencial.

Se ha observado que en condiciones de sobrecarga de hierro, se produce un aumento de la captación del metal no unido a transferrina por parte de los macrófagos. Al ser considerados los macrófagos como una forma de almacenamiento de hierro y debido a su implicación en la regulación de la disponibilidad del metal para otras células, varios autores han atribuido a la vía independiente de transferrina una función detoxificadora, como una forma de prevenir posibles daños titulares debido al exceso de hierro (Kaplan et al., 1991; Conrad et al., 1994; Randell et al., 1994; Olakanmi et al., 1997).

#### **4.2.4 DEPÓSITOS DE HIERRO**

El volumen de las reservas de hierro es muy variable, pero generalmente se considera que un hombre adulto normal tiene entre 500 y 1500 mg y una mujer entre 300 y 1000 mg, aunque estos valores dependen enormemente del estado nutricional del individuo (Lee y Herbert, 1998).

El exceso de hierro se deposita intracelularmente asociado a ferritina y hemosiderina fundamentalmente en el sistema monocito-macrófago del bazo, del hígado y de la médula ósea (Andrews, 1999).

##### **4.2.4.1 Ferritina**

La mayoría de las células del organismo contienen ferritina, pero su concentración es mayor en el parénquima y el Sistema Retículo Endotelial (SRE) del hígado y en los macrófagos del bazo y de la médula ósea. El metal almacenado en la ferritina hepática procede de la transferrina, y en menor medida de los complejos hemoglobina, haptoglobina y hemopexina. El depósito del SRE procede de la depuración de los hematíes senescentes.

La ferritina es una proteína de depósito tisular de hierro que posee una forma esférica de unos 12nm de diámetro con un peso molecular superior a 440.000 dalton. Se compone de una capa proteica (apoferritina) constituida por 24 subunidades y un núcleo férrico con aproximadamente 2.500 iones de hierro.

Cada molécula de ferritina puede contener hasta 4.500 átomos de hierro, aunque normalmente tiene alrededor de 2.500, almacenados como cristales de hidróxido fosfato férrico  $[(\text{FeOOH})_8 \cdot \text{FeO} \cdot \text{PO}_3\text{H}_2]$  (Dallman et al., 1993; Wick et al., 1996).

La molécula de apoferritina es un heteropolímero de 24 subunidades de 2 tipos diferentes con un peso molecular de 20 kDa cada una, formadas por 4 cadenas helicoidales.

La apoferritina de las células contiene una cavidad hueca (núcleo férrico) en su interior de 7,5 nm que rodea a los cristales de hierro y es una mezcla de las dos subunidades de ferritina, la H (*Heavy*) o forma pesada con actividad ferroxidasa y la L (*Light*) o ligera cuya función es nucleadora del hierro y es realmente la molécula de depósito (Jacobs, 1985). La ferritina H es absolutamente necesaria y su ausencia es incompatible con la vida. Su función ferroxidasa hace que el  $\text{Fe}^{2+}$  intracelular pase a  $\text{Fe}^{3+}$  y sea incorporado a los cristales de hidróxido fosfato férrico (Harrison y Arosio, 1996).

Las variaciones en el contenido de las subunidades que componen la molécula de apoferritina determinan la existencia de diferentes isoferritinas, las cuales se dividen en 2 grandes grupos: a) las isoferritinas ácidas (ricas en cadenas H) localizadas en el corazón, los glóbulos rojos, los linfocitos y los monocitos, y b) las isoferritinas básicas (ricas en cadenas L) predominantes en el hígado, el bazo, la placenta y los granulocitos.

Se han observado diferencias entre la velocidad de captación de hierro por las diferentes isoferritinas. Las isoferritinas ricas en cadenas H tienen una mayor velocidad de captación y se ha demostrado que ésta es precisamente la función de este tipo de subunidad (Wagstaff et al., 1978). No obstante, las cadenas H y L cooperan en la captación del hierro, las subunidades H promueven la oxidación del hierro y las L, la formación del núcleo férrico (Levi et al., 1992). Tanto el depósito de hierro como su liberación a la circulación son muy rápidos, e interviene en este último proceso un flavinmononucleótido.

Cuando es necesario, el hierro (almacenado o no en la ferritina) es liberado desde la célula. Para que este proceso tenga lugar es preciso que intervenga la actividad ferroxidasa de una glicoproteína sérica llamada ceruloplasmina, ya que el hierro es liberado en forma ferrosa. En el plasma, esta glicoproteína transforma el hierro

ferroso a hierro férrico facilitando así su incorporación a la transferrina que lo transporta y distribuye al resto del organismo. Si la ceruloplasmina no funciona adecuadamente se produce un atesoramiento de hierro por imposibilidad de su liberación (Perez-Aguilar, 2002).

La función fundamental de la ferritina es garantizar el depósito intracelular de hierro para su posterior utilización en la síntesis de las proteínas y enzimas. En los animales, la ferritina no se encuentra solamente en el interior de la célula, sino también circulando en plasma. La ferritina sérica se encuentra en equilibrio con el hierro de depósito del organismo y por lo tanto indica la magnitud de dicho depósito (Lipschitz et al., 1974, Finch et al., 1986). Sin embargo, las concentraciones séricas pueden estar elevadas independientemente de los depósitos del metal en presencia de ciertos síndromes clínicos, entre los que se incluyen la enfermedad renal, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la infección o inflamación sistémica no asociada a VIH y los procesos neoplásicos (Lee y Means, 1995; Herbert et al., 1997; Hernández et al., 2000).

#### **4.2.4.2 Hemosiderina**

La ferritina en la célula se encuentra en el citoplasma, pero puede pasar a los lisosomas que al digerirla forman a partir de ella estructuras paracristalinas peor definidas, constituidas en un 50% por agregados insolubles de hierro no movilizable y restos orgánicos de lípidos, fosfatos y péptidos. Estas estructuras constituyen la hemosiderina (Finch et al., 1984).

La hemosiderina está químicamente emparentada con la ferritina, de la que se diferencia por su insolubilidad en agua. Aunque ambas proteínas son inmunológicamente idénticas, la hemosiderina contiene un porcentaje mayor de hierro (30 %) y al microscopio se observa en forma de agregados de moléculas de ferritina con conformación diferente de los cristales de hierro. La hemosiderina parece preservar a la célula de los efectos nocivos del hierro libre en situaciones de sobrecarga, pero a diferencia de la ferritina, el hierro que contiene es casi inmovilizable (O'Connell et al., 1986).

### 4.2.5 EXCRECIÓN

La capacidad de excreción de hierro del organismo es muy limitada, por ello como se ha comentado anteriormente, es necesario un potente sistema regulador de la capacidad de absorción de la mucosa intestinal para alcanzar el equilibrio.

Con respecto a las pérdidas obligadas de hierro, las cantidades que se eliminan diariamente oscilan de 1 a 2 mg/día, lo que representa una pequeña parte de la cantidad total de hierro del organismo.

En el adulto, las pérdidas obligadas de hierro son entre 0,2-0,5 mg por descamación de la piel, entre 0,1-0,3 por orina y entre 0,6-0,7 por heces (Mataix y Llopis, 2002). El hierro eliminado por las heces procede fundamentalmente del que no se ha absorbido de la dieta y de la ferritina contenida en las células descamadas en el tracto intestinal (Petersen et al., 1996).

Por otra parte, en las personas sanas, la eliminación de hierro en la orina es insignificante, debido a que circula unido a proteínas que no se filtran por los glomérulos renales. En determinados estados patológicos si se observa un aumento de la excreción urinaria, es el caso de la hemólisis intravascular, el síndrome nefrótico, la hemocromatosis y, excepcionalmente, las alteraciones en el metabolismo del hierro (Kildahl-Andersen et al., 2000).

En la mujer, de la pubertad a la menopausia, hay que añadir las pérdidas relacionadas con las hemorragias menstruales que por término medio se calculan entre 0,4 y 0,5 mg/día. No obstante, estas pérdidas son difíciles de calcular, ya que pueden verse afectadas por muchos factores como el peso, talla, paridad y empleo de anticonceptivos. Así por ejemplo, los anticonceptivos orales pueden dar lugar a reducciones del 50% del volumen de las menstruaciones, mientras que los dispositivos intrauterinos son capaces de provocar incrementos de más de un 100%. Además de las pérdidas fisiológicas, se pueden producir en ocasiones otras por pequeñas hemorragias repetidas como en las neoplasias digestivas, hemorroides, úlceras, toma regular de algunos medicamentos (aspirina, anticoagulantes) y algunas parasitosis digestivas.

#### 4.2.6 REGULACIÓN DEL METABOLISMO

El control del metabolismo del hierro requiere una red molecular compleja y estrictamente controlada ya que aunque el hierro es esencial para el metabolismo celular y la respiración aeróbica, su exceso conduce a toxicidad y muerte celular a consecuencia de la formación de especies reactivas de oxígeno (Britton et al., 1994; Leonarduzzi et al., 1997).

Hasta hace algo más de una década solo eran conocidas tres proteínas que intervenían en el metabolismo del hierro: a) la ferritina, proteína principal de reserva, b) la transferrina, principal transportador y c) el receptor de transferrina, fundamental para la internalización celular del hierro. En los últimos años se han producido importantes avances en el campo del metabolismo del hierro como consecuencia del descubrimiento de un número importante de nuevas proteínas involucradas en su metabolismo intracelular y sistémico.

La absorción del hierro se ve afectada por factores genéticos, dietéticos y biológicos que se detallan a continuación.

##### 4.2.6.1 Factores dietéticos

Entre los factores dietéticos que influyen en la absorción del hierro a nivel del lumen intestinal, tenemos los que la aumentan o activadores y aquellos que la disminuyen llamados inhibidores (Tabla 8).

Entre los factores dietéticos activadores de la absorción de hierro no hemo se encuentra el ácido ascórbico (vitamina C), que no solo favorece la reducción del hierro a su forma ferrosa (Agente Reductor de la Dieta, ARD), sino también su quelación, manteniendo de esta forma al hierro soluble y biológicamente disponible para ser absorbido. También existen otros ácidos orgánicos que producen un aumento de la absorción de hierro como el ácido cítrico, el málico y el tartárico (Siegenberg et al., 1991; Lynch, 1997).

Alimentos como la carne y el pescado también producen un aumento en la absorción del hierro pero el mecanismo por el cual ocurre no ha sido claramente establecido. Sin embargo, existen evidencias experimentales que sugieren que se

debe fundamentalmente a su composición en aminoácidos, asignándole a la cisteína, a los aminoácidos azufrados y a los péptidos que los contienen el efecto promotor (Martínez-Torres et al., 1981; Layrisse et al., 1984; Taylor et al., 1986).

De todos los factores activadores de la absorción del hierro no hemo, el más importante es el ácido ascórbico. Esta vitamina puede aumentar entre 2 y 6 veces la absorción del hierro no hemo, siendo su efecto independiente de otros factores activadores e inhibidores de la absorción del hierro. El ácido ascórbico es efectivo desde 25 mg (un tercio de vaso de zumo de naranja) hasta 200 mg. A partir de esta cantidad ya no aumenta el efecto. La potencia de acción de 1 gramo de carne es equivalente a la de 1 mg de ácido ascórbico (Hallberg, 2001).

A lo largo del tiempo varios estudios han observado que la vitamina A al igual que los beta-carotenos aumentan la solubilidad del hierro contenido en el alimento además de disminuir el efecto inhibitorio que provocan los fitatos y polifenoles presentes en la dieta. Si bien no se ha esclarecido el mecanismo por el cual producen este efecto, se cree que podría ocurrir a través de la formación de complejos que mantendrían soluble al hierro en el lumen intestinal, previniendo de esta forma los efectos inhibitorios de los taninos y polifenoles en la absorción del hierro (Suharno et al., 1993; García-Casal et al., 1998; García-Casal et al., 2000). Sin embargo, no existen estudios concluyentes en cuanto a esta relación entre vitamina A y hierro dietético y de hecho, algún estudio es contradictorio (Walczyk et al., 2003).

Entre los factores inhibidores, existen muchos estudios en los que se observa el claro efecto inhibitorio del calcio sobre la absorción del hierro. La particularidad del calcio es que inhibe tanto el hierro no hemo como el hierro hemo (Hallberg et al., 1991; Hallberg et al., 1992). El mecanismo por el cual el calcio inhibe la absorción del hierro no está del todo clara pero al inhibir la absorción de los dos tipos de hierro y teniendo en cuenta que éstos pasan al enterocito a través de diferentes receptores en la mucosa intestinal, se cree que el calcio debe actuar en algún paso común entre la mucosa intestinal y la transferencia del hierro a la circulación (Hallberg, 1998). En los últimos años se ha demostrado que el efecto inhibitorio del calcio depende de la dosis. Mientras que a dosis de calcio inferiores a 40 mg no parece observarse su efecto inhibitorio, con una ingesta de alrededor de 300 mg, ya se observa una inhibición de la absorción del hierro de entre un 50 a un 60%.

Otros factores dietéticos que actúan como inhibidores son diversos polifenoles y taninos contenidos en el café, en algunos vinos, en productos vegetales e infusiones aromáticas y sobre todo en el té. La absorción disminuye proporcionalmente con el volumen de té o café consumidos, así se ha determinado que en presencia de té, la absorción del hierro disminuye hasta el 60% mientras que en la de café, la absorción se reduce hasta el 40%.

Por su parte, los fitatos (contenidos en la fibra dietética) del salvado, cereales y legumbres también tienen un claro efecto inhibidor, debido a la formación de quelatos insolubles. En este sentido, se ha calculado que de 5 a 10 mg de fitatos pueden reducir la absorción del hierro no hemo a la mitad, lo que puede ser evitado por el consumo de pequeñas cantidades de carne y vitamina C que impiden la formación de estos quelatos, lo que provoca un aumento de la absorción aún en presencia estos inhibidores.

Entre las proteínas que inhiben la absorción del hierro no hemo, encontramos una amplia variedad, tanto de origen animal como vegetal. Las proteínas de origen animal que poseen un efecto inhibidor más significativo son la caseína, las proteínas del suero de la leche, la seroalbúmina bovina y las proteínas de la yema de huevo. De las proteínas de origen vegetal la más importante es una fracción derivada de la proteína de soja, denominada 7S conglucina, que demostró poseer un efecto inhibidor sobre la absorción del hierro no hemo similar al producido por los fitatos (Kane y Millar, 1984; Hurrell et al., 1992; Lynch et al., 1994).

Los fosfatos producen compuestos insolubles, principalmente con los iones férricos, inhibiendo consecuentemente su absorción (Brune et al., 1992; Jackson y Lee, 1992; Sandberg et al., 1999). También se ha sugerido que el cadmio y el cinc tienen cierto efecto inhibidor, pero su efecto en la absorción de hierro no hemo en humanos es mínimo (Hallberg, 2001).

El contenido de sustancias favorecedoras e inhibidoras de la absorción va a determinar la biodisponibilidad del hierro presente en la dieta.

Por último, el consumo de alcohol se asocia a un aumento de los niveles de hierro. El mecanismo por el cual se produce esta relación no se conoce de forma exacta aunque existen varias teorías. Una de ellas propone que el alcohol podría aumentar la permeabilidad de la mucosa intestinal al hierro, además de la influencia de la presencia de hierro en algunos vinos y cervezas (Moirand et al., 1991), la otra teoría y más reciente indica que el alcohol podría activar la

absorción dietética del hierro (Whitfield et al., 2001) mediante la inhibición de la expresión de la proteína hepcidina (Flanagan et al., 2007; Kowdley, 2007).

**Tabla 8. Factores dietéticos implicados en la absorción del hierro**

<b>FACTORES ACTIVADORES</b>	<b>FACTORES INHIBIDORES</b>
Proteína animal (carne, pescado)	Fitatos (fibra dietética)
Ácido ascórbico (Vit. C)	Calcio
Ácido cítrico, málico y tartárico	Taninos (café, té, vino)
	Polifenoles

#### 4.2.6.2 Factores biológicos

Aunque está claro que los factores dietéticos y genéticos modifican la absorción dietética del hierro, se acepta generalmente que la absorción del hierro dietético es determinada por un mecanismo de regulación feedback o de retroalimentación (Hallberg et al., 1997).

El enterocito desempeña un papel central en la regulación de la absorción de hierro, debido a que los niveles intracelulares adquiridos durante su formación determinan la cantidad del mineral que entra a la célula. El hierro del enterocito ingresa a la circulación de acuerdo con las necesidades orgánicas, y el resto permanece en su interior hasta su descamación. De este modo, las células mucosas protegen al organismo de la sobrecarga de hierro de origen dietético al almacenar el exceso del mineral como ferritina en las células intestinales que es posteriormente excretada durante el recambio celular normal (Wick et al., 1996).

La absorción de hierro puede ser ajustada dentro de ciertos límites para cubrir los requerimientos de este metal. Aumenta cuando los depósitos de hierro son bajos (Finch, 1994), cuando la actividad eritropoyética es elevada (en una hemorragia), en condiciones de hipoxia, anemia o cuando el peso corporal aumenta (Hallberg, 2001).

También existen diferentes estados fisiológicos que producen un sustancial incremento en la absorción de este metal, como en el crecimiento y el embarazo, como consecuencia de un aumento de la síntesis de biomoléculas que poseen hierro en su estructura (Bezwoda et al., 1979; Cook, 1990; Hulten et al., 1995).

El incremento en la absorción de hierro hemo respecto al no hemo es de menor proporción (Wick et al., 1996) debido posiblemente a que la superficie absorptiva de la célula intestinal no reconoce al hemo como hierro, por lo que el incremento de su absorción se deberá solamente a la pérdida de la saturación de los receptores dentro de la célula y en las membranas basolaterales (Uzel y Conrad, 1998).

La absorción del hierro puede ser también afectada por una serie de factores intraluminales como la aquilia gástrica, el tiempo de tránsito acelerado y los síndromes de malabsorción (Andrews y Bridge, 1998).

#### 4.2.6.3 Factores genéticos

En la regulación del metabolismo del hierro se encuentran implicadas varias proteínas. Podemos encontrar diversas mutaciones en los genes que expresan dichas proteínas de forma que modificarán su mecanismo de acción disminuyendo o aumentando la absorción del hierro.

Las mutaciones en el gen de la proteína DMT1 conducen a un estado de déficit de hierro por disminución de su absorción. En cambio, las mutaciones en los genes que expresan las proteínas HFE, hemojuvelina, hepcidina y receptor de transferrina 2 (RTf2), nos llevarán a un estado de sobrecarga por un aumento de su absorción.

A continuación se describen las nuevas proteínas descubiertas en los últimos años cuyo papel parece ser fundamental en esta regulación (Tabla 9).

**Tabla 9. Principales alteraciones genéticas implicadas en metabolismo del hierro**

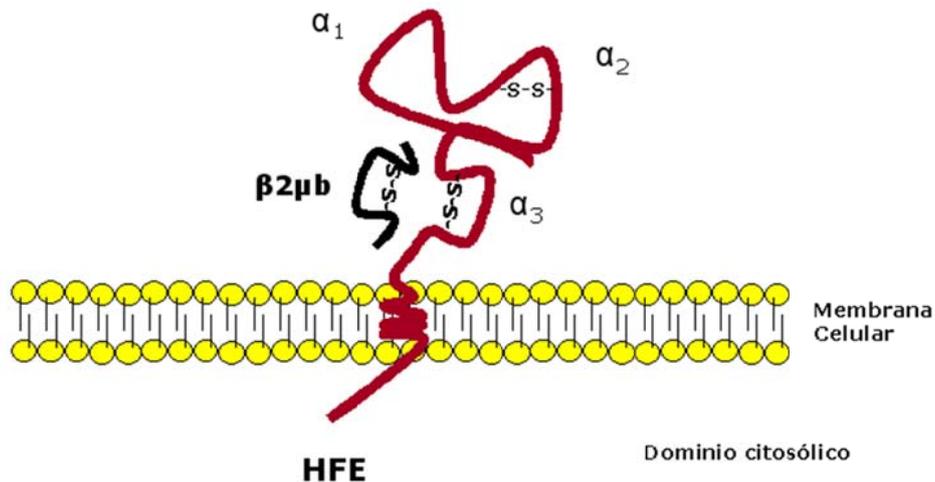
GEN	PROTEINA	FUNCIÓN EN EL METABOLISMO DEL HIERRO
<b>HAMP</b>	HEPCIDINA	Hormona reguladora de la absorción del hierro
<b>HFE</b>	HFE	Media la incorporación celular del hierro unido a transferrina. Modula expresión de la hepcidina
<b>TFR2</b>	RTF2	Sensor de la saturación de la transferrina. Modula expresión de la hepcidina
<b>HJV</b>	HEMOJUVELINA	Modula la expresión de la hepcidina
<b>SLC40A1</b>	FERROPORTINA	Exportador de hierro y reciclaje de las reservas corporales
<b>SLC11A2</b>	DMT1	Transportador de hierro y otros metales divalentes
<b>Heph</b>	HEFAESTATINA	Eflujo de hierro del enterocito

#### 4.2.6.3.1 HFE

Es la primera molécula que se asoció con la regulación del balance sistémico de hierro. Esta proteína de membrana se identificó en el 1996 (Feder et al., 1996) como producto del gen HFE o gen de la Hemocromatosis Hereditaria (HH) de tipo 1 situado en el brazo corto del cromosoma 6.

La proteína HFE pertenece a la familia de las moléculas de clase 1 de histocompatibilidad HLA (Gross et al., 1998). Como ellas, es una glicoproteína de 343 aminoácidos que se sitúa en la membrana plasmática de algunas células. Está formada por tres asas extracelulares - $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ -, una porción transmembranosa y otra corta intracitoplásmica. Entre las asas  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  queda un espacio por el que interactúa con los receptores de la transferrina (Bennet et al., 2000). El asa  $\alpha_3$  se forma por la existencia de un puente tiol entre dos moléculas de cisteína. Este asa es fundamental para su unión no covalente a la  $\beta_2\mu b$  y para su expresión en la superficie de las células (Ehrlich y Lemonnier, 2000) (Figura 1). Se le dio el nombre HFE por la abreviatura del término en inglés relacionado con HLA-H, que es la región del sistema HLA cercano al gen y FE como símbolo del hierro.

Figura 1. Representación de la proteína HFE



Fuente: Adaptado de Feder et al., 1996

La proteína HFE se expresa en muchos tejidos en asociación con la proteína  $\beta$ 2-microglobulina pero de forma mayoritaria se observa en el hígado y en el duodeno. En el duodeno, se expresa concretamente en las células de las criptas donde se encuentra en asociación con los receptores de transferrina RTf1 y RTf2 (Frazer et al., 2001; Moyer et al., 2011; Ganz y Nemeth, 2012).

Esta proteína juega un papel importante en el metabolismo del hierro. En la regulación de la absorción dietética del hierro se considera a las células de las criptas duodenales como reservas de hierro (Fleming y Britton, 2006; Moyer et al., 2011). En la membrana basal de estas células se encuentra la proteína HFE junto a la  $\beta$ 2 $\mu$ b y los RTfs. Cuando la transferrina llega saturada de hierro, se incorpora al complejo HFE- $\beta$ 2 $\mu$ b-Rtransferrina y todo él se internaliza en un endosoma (Lebron et al., 1998; Moyer et al., 2011). La transferrina libera el hierro que transporta en las células de las criptas duodenales. Si la proteína HFE está alterada por la presencia de alguna mutación en el gen HFE, el transporte de hierro disminuye (Moyer et al., 2011).

Por otro lado, cualquier alteración en la proteína HFE o en los receptores RTfs provoca una atenuación de la expresión genética de la hepcidina (hormona reguladora de la absorción de hierro) (Fleming y Ponka, 2012), lo que sugiere que el gen HFE es necesario para una correcta regulación de la síntesis de hepcidina y que los efectos nocivos de las mutaciones de HFE se deben en realidad al déficit de su expresión.

En ausencia de HFE o RTfs, no se produce la señal para sintetizar la hepcidina, de forma que no disminuirá la exportación de hierro a la circulación ni la absorción dietética causando un estado de exceso de hierro que conducirá a la sobrecarga de hierro en las células parenquimatosas.

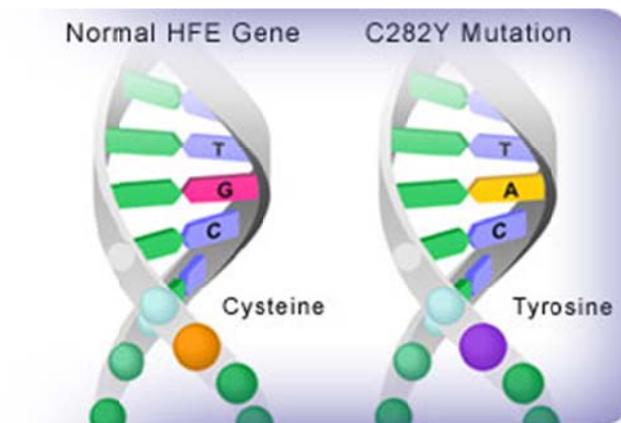
#### **4.2.6.3.2 Alteraciones del gen HFE**

La presencia de mutaciones en el gen de HFE conlleva a una disfunción total o parcial de la proteína HFE y por tanto a una modificación de todos estos procesos que regulan de cerca el estado del hierro del cuerpo. Como resultado se observa un aumento de la absorción intestinal del hierro que conduce a una sobrecarga de hierro sistémica (Anderson et al., 2005; Beutler, 2006). Este mecanismo es también

el que se observa en el déficit de hierro o cuando los niveles de hepcidina son bajos (West et al., 2006).

Se han detectado tres alteraciones principales en el gen HFE (C282Y, H63D y S65C) relacionadas con el aumento de la absorción del hierro. La primera y principal es la alteración C282Y, se trata de una sustitución en el nucleótido 845 del exón 5 del gen, de guanina por adenina, lo que provoca la sustitución en la síntesis proteica de cisteína por tirosina en la posición 282 (Figura 2). Esta mutación destruye un enlace disulfuro implicado en la unión de la proteína  $\beta 2\mu b$  y HFE de forma que esta última no se expresa en la membrana. Esta falta de proteína HFE provoca que no entre hierro a la célula de la cripta de forma que se crea una falsa señal de depósitos de hierro bajos lo que conduce a un aumento inapropiado de la absorción de hierro en los enterocitos (Feder et al., 1997; Waheed et al., 1997; Waheed et al., 2002).

**Figura 2. Mutación C282Y del gen HFE**



A nivel hepático, la pérdida de HFE conduce a una disminución de la expresión de hepcidina lo que provoca un aumento de la exportación del hierro al plasma por parte de la ferroportina tanto a nivel de los enterocitos duodenales como de las células del SER. De esta forma, las concentraciones de hierro circulante aumentan y la transferrina se empieza a saturar, por lo que aparece en la circulación el hierro no unido a transferrina (NTBI) que es captado por aquellos tejidos con alta capacidad para hacerlo, como es el caso del hígado (Fleming y Britton, 2006).

La mayoría de las personas con hemocromatosis hereditaria (HH) tienen la mutación C282Y en su forma homocigota o tienen las mutaciones heterocigotas para C282Y y H63D (un 80-90% aproximadamente) (Hanson et al., 2001; Moyer et al., 2011). Concretamente en España, el 85% de pacientes con hemocromatosis son homocigotos para la mutación C282Y (Altes et al., 2004), mientras que solamente un 3,6 % de los sujetos con esta enfermedad presentan la mutación C282Y en su forma heterocigota, definiendo así su expresión fenotípica.

Una posible explicación a la aparición de esta mutación es que podría haber sido útil para las poblaciones con una ingesta limitada de hierro dietético, favoreciendo así la absorción de hierro (Fleming, 2002). Se baraja la posibilidad que la mutación ocurriera en un ancestro posiblemente celta y la mutación se extendiera desde el norte de Europa hasta otras regiones del mundo (Moyer et al., 2011).

Una segunda mutación, la H63D (Jouanolle et al., 1997), localizada en el exón 2 del gen HFE, supone la sustitución de citosina por guanina en el nucleótido 187, que reemplaza el aminoácido histidina por ácido aspártico en la posición 63 en su síntesis proteica. Dicha mutación provoca la alteración de la estructura terciaria de la proteína HFE, lo cual afecta también la regulación de la absorción del hierro, aunque en esta ocasión la expresión fenotípica es mucho más leve o moderada que la observada con la mutación C282Y homocigota (Beutler et al., 1996; Feder et al., 1997; Merryweather-Clarke et al., 1997; Waheed et al., 1997).

En una importante revisión se observó que aproximadamente un 5% de los individuos con HH fueron portadores del compuesto heterocigoto (C282Y/H63D), un 1,5% homocigotos para H63D y un 5,2 % heterocigotos para H63D (Hanson et al., 2001).

La tercera mutación asociada a la HH es la S65C (Mura et al., 1999) que consiste en el cambio de una adenina por una timidina en la posición nucleótida 193 lo que produce el intercambio de serina por cisteína en la posición 65 (S65C) (Barton et al., 1999). Aunque esta mutación está mucho menos estudiada que las anteriores, también ha sido asociada a una sobrecarga moderada o leve de hierro (Holmström et al., 2002).

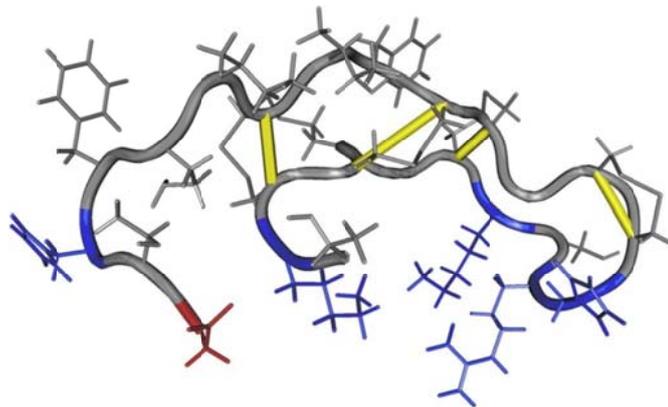
Desde el descubrimiento de C282Y, H63D y S65C se han descubierto aproximadamente unas 18 mutaciones del gen HFE más, pero en general estas mutaciones son poco frecuentes y sin importancia clínica (Moyer et al., 2011).

#### 4.2.6.4 Marcador emergente: HEPCIDINA

Los estímulos conocidos que modulan los mecanismos homeostáticos del hierro son la eritropoyesis, la hipoxia, el déficit de hierro, la sobrecarga de hierro y la inflamación. Hoy sabemos que buena parte de esta regulación es controlada por una hormona peptídica circulante hepática recientemente descubierta llamada hepcidina (Frazer y Anderson, 2003).

La hepcidina, es una pequeña hormona peptídica de 20-25 aminoácidos perteneciente a la familia de las defensinas, péptidos antimicrobianos ricos en cisteínas (Figura 3). Se describió por primera vez como LEAP-1 (*Liver Expressed Antimicrobial Peptide 1*) en el año 2000 (Krause et al., 2000) y un año más tarde se correlacionó con el metabolismo del hierro junto a otros genes y proteínas, ya como hepcidina (Pigeon et al., 2001).

**Figura 3. Estructura de la hepcidina**



La hepcidina se denominó así al aislarse en orina humana un péptido sintetizado por el hígado (hep-) con propiedades antimicrobianas (antifúngica y antibacteriana) in vitro (-cidin) (Park et al., 2001). Actualmente se la conoce también como HAMP (Hepcidin Antimicrobial Peptide). Dicha proteína se considera el regulador central del metabolismo del hierro y se ha demostrado su implicación en desórdenes comunes a este metabolismo, como la hemocromatosis hereditaria (Lee et al., 2001) y la anemia de los procesos crónicos.

La hepcidina inhibe la entrada de hierro en el plasma proveniente de las tres fuentes principales de hierro: la absorción dietética en el duodeno, el hierro reciclado a partir de macrófagos y el hierro almacenado de los hepatocitos (Ganz y Nemeth, 2012).

La producción de hepcidina es regulada por los niveles de hierro, de manera que los hepatocitos producen más hepcidina cuando el hierro es abundante limitando su absorción y almacenamiento. Por el contrario, cuando el hierro es deficiente, los hepatocitos no producen hepcidina, permitiendo así la entrada de hierro en el plasma.

La expresión de la hepcidina se altera en respuesta a cada uno de los estímulos conocidos que afectan a la homeostasis del hierro mediante diferentes vías (Figura 4) (Ganz y Nemeth, 2012).

El aumento de la eritropoyesis está asociado a una disminución de la expresión de hepcidina por mecanismos aún por describir. Puede ser que el proceso esté mediado por moléculas liberadas por precursores eritroides y entre ellas el factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF-15) (Casanovas et al., 2011).

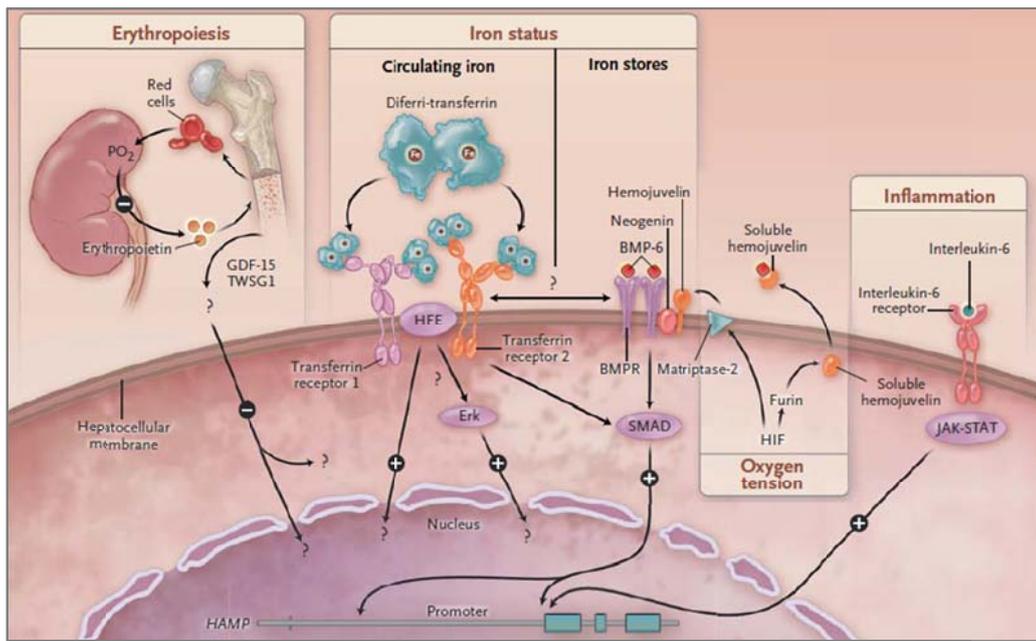
El estado de hierro del organismo regula la expresión de hepcidina mediante dos mecanismos: el hierro almacenado en el hígado y el hierro circulante. Al aumentar los niveles de hierro la expresión de la hepcidina también aumenta. A nivel hepático interviene la proteína morfogenética ósea 6 (BMP-6). La interacción entre BMP-6 y su receptor en el hepatocito inicia una señalización intracelular a través de proteínas SMAD, provocando un aumento de la transcripción de hepcidina. La unión de BMP-6 está modulada por el correceptor de BMP hemojuvelina y la neogenina (Kautz et al., 2008; Andripoulos et al., 2009). El hierro circulante regula la expresión de hepcidina mediante la transferrina, proteína que actúa sobre los receptores RTf1 y RTf2. La unión de la transferrina a los receptores está modulada por la interacción física entre receptores y la proteína HFE (Schmidt et al., 2008; Gao et al., 2009).

En situación de hipoxia, la expresión de hepcidina disminuye mediante el aumento de la transcripción de dos genes, matriptasa-2 y la furina, ambos sensibles al factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF). La proteasa se

adhiera a la hemojuvelina y atenúa la señalización de BMP-6 disminuyendo así la expresión de hepcidina (Lakhal et al., 2011).

Las infecciones u otras formas de inflamación también aumentan la expresión de hepcidina mediante un proceso en el que interviene principalmente la citoquina interleuquina-6 (Nemeth et al., 2004).

**Figura 4. Regulación hepatocelular de la expresión de hepcidina.**



Fuente: Fleming y Ponka, 2012.

## 5. ESTADO EN HIERRO Y DESARROLLO COGNITIVO DEL NIÑO

Los primeros dos años de vida del niño suponen un aumento de los requerimientos de hierro para poder afrontar el rápido crecimiento y todos los procesos de desarrollo que tienen lugar en este período de tiempo (Thompson and Nelson, 2001).

La prevalencia de déficit de hierro en niños menores de 4 años oscila entre el 20% en países desarrollados y el 39% en países en vías de desarrollo (WHO, 2001). Aun así, en niños es difícil estimar la prevalencia de déficit de hierro o anemia ya que los cambios fisiológicos que se producen durante la infancia provocan oscilaciones en el estado en hierro, a la vez que no hay un acuerdo sobre los valores a utilizar para determinar déficit de hierro o anemia (Hermoso et al., 2011).

Se ha evidenciado que un estado de déficit de hierro influye negativamente sobre funciones fisiológicas, no sólo a nivel de síntesis de hemoglobina sino también a nivel de la actividad de las enzimas que contienen hierro presentes en el cerebro (Benton, 2008).

Ante una deficiencia de hierro, ya sea durante la vida intrauterina como en la vida postnatal, la estructura del cerebro puede verse afectada ya que el hierro es esencial para la neurogénesis y la correcta diferenciación de las células y regiones del cerebro (Beard, 2008).

A nivel cerebral, la concentración más alta de hierro se encuentra en los ganglios basales, los cuales intervienen en la motricidad fina y en la integración del movimiento. El hierro se encuentra predominantemente en las células llamadas oligodendritas, responsables de la síntesis de mielina, vaina lipídica que aísla las células nerviosas.

En el proceso de desarrollo de las oligodendritas, la glucosa se metaboliza principalmente a través de la vía de pentosas fosfato, proporcionando una reducción de los equivalentes (NADPH) para la síntesis de ácidos grasos de mielina lo que requiere hierro como cofactor de las enzimas implicadas (Todorich et al., 2009).

En situación de déficit de hierro, se produce una disminución de la arborización de las dendritas lo que provoca una disminución del número y la complejidad de las

conexiones interneuronales. A la vez, tiene lugar una alteración morfológica en la función de las oligodendritas (Beard, 2008).

Se ha demostrado que un descenso en el aporte de hierro provoca una disminución en la síntesis de mielina y ésta disminución puede ser uno de los mecanismos que explica el deterioro de la función neurológica en situación de déficit de hierro (Scientific advisory committee, 2010). Se ha relacionado el déficit de hierro durante los primeros años de vida con retrasos socio-emocionales, cognitivos, motores y retrasos en el funcionamiento neurofisiológico (Lozoff et al., 2006a; Geogjeff, 2011). A la vez, varios estudios han demostrado que los efectos del déficit de hierro persisten, aún y haber recuperado los niveles normales de hierro (Grantham-McGregor and Ani, 2001; Hermoso et al., 2011).

El déficit de hierro también afecta a nivel neuroquímico, concretamente sobre las vías monoaminérgicas. Parece ser que el metabolismo de la norepinefrina y la dopamina se ve alterado por el déficit de hierro, provocando alteraciones sobre el control motor, el ciclo del sueño, la memoria y el aprendizaje (Lozoff et al., 2006a; Beard, 2008).

En una reciente revisión bibliográfica se ha concluido que la suplementación con hierro durante un mínimo de 2 meses, produce un efecto beneficioso sobre el desarrollo cognitivo y psicomotor en bebés y niños (Hermoso et al., 2011). El efecto a nivel cognitivo de la suplementación con hierro en niños menores de 2 años no se ha observado en muchos estudios pero si en niños mayores de dos años con anemia ferropénica, observándose beneficios a nivel cognitivo y de comportamiento (Hermoso et al., 2011).

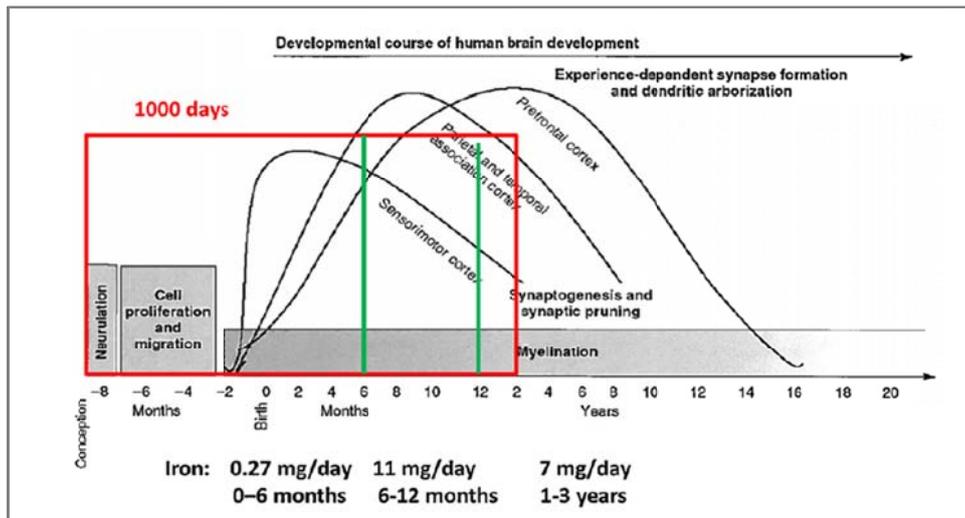
En el 2004 se estudiaron 680 niños indonesios suplementados con hierro versus placebo desde los 6 hasta los 12 meses y se observó un efecto positivo de la suplementación sobre el desarrollo motor del niño (Lind et al., 2004). Esta misma observación se recoge en una revisión realizada en 2010, donde no se observaron beneficios a nivel de desarrollo mental pero si a nivel de desarrollo psicomotor después de una suplementación con hierro en niños menores de 3 años (Szajewska et al., 2010).

Pocos estudios han determinado el nivel umbral de hemoglobina a partir del cual se asocia una alteración del desarrollo del niño. Actualmente no se puede determinar el límite de anemia o déficit de hierro a partir del cual el desarrollo

cognitivo, motor y el comportamiento se pueden ver afectados, pero si se ha documentado una disminución en el desarrollo mental a concentraciones de hemoglobina por debajo de 11 mg/L (Scientific advisory committee, 2010).

En la figura 5 se muestra el desarrollo cerebral junto con los requerimientos de hierro y el proceso de mielinización.

**Figura 5. Desarrollo cerebral y requerimientos de hierro.**



Fuente: Black, 2012.

## 6. METODOS DE VALORACIÓN DEL ESTADO BIOQUÍMICO DEL HIERRO

Existen diferentes parámetros que valoran el estado en hierro en el organismo. Los más utilizados son los siguientes:

**Hemoglobina:** La hemoglobina es la proteína que transporta el oxígeno en la sangre y se encuentra en los glóbulos rojos. Las anomalías de los valores de la hemoglobina indican defectos en la homeostasis de los glóbulos rojos y tanto los valores altos como los bajos son indicadores de estados patológicos.

El hierro es un componente esencial de la hemoglobina, por lo que cambios en el estado del hierro en el organismo afectara en los niveles de hemoglobina. Así por ejemplo, una concentración baja de hemoglobina produce hipocromía, la cual es una característica relacionada con la anemia por déficit de hierro.

El uso de la hemoglobina como un indicador del estado del hierro posee algunas limitaciones debido a que existen determinadas condiciones que afectan sus niveles, como en el caso de la deshidratación, procesos inflamatorios crónicos, policitemia, hábito de fumar, infección crónica, hemorragias, deficiencia de vitamina B12 y ácido fólico, malnutrición proteico-energética, embarazo y hemoglobinopatías.

Al considerar los valores normales para este parámetro es necesario tener en cuenta las variaciones existentes que dependen de la edad, el sexo y la raza de la persona, ya que estos valores presentan pequeñas pero significativas variaciones en cada caso particular.

**Hematocrito:** Es el porcentaje del volumen total de sangre compuesto de glóbulos rojos y sus valores normales dependen de la edad, sexo y raza del individuo.

La utilización del hematocrito para determinar el estado del hierro posee algunas desventajas ya que al igual que en el caso de la determinación de la concentración de la hemoglobina, el hematocrito se ve afectado por diferentes factores. Otra desventaja de este método es la alta de precisión, especialmente cuando se utilizan muestras obtenidas de sangre capilar. Sin embargo, pese a

estas limitaciones el hematocrito tiene como ventaja ser un método económico, simple y rápido.

**Índices eritrocitarios:** Estos índices están constituidos por el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM).

Estos parámetros sirven para determinar el tamaño, el contenido y la concentración de hemoglobina de los glóbulos rojos, pudiéndose calcular a partir de la determinación de los valores de concentración de hemoglobina, hematocrito y número de glóbulos rojos. El VCM es el volumen medio de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor del hematocrito y el número de células rojas. La HCM es el contenido promedio de hemoglobina de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor de la concentración de hemoglobina y el número de células rojas. La CHCM es la concentración media de hemoglobina en un volumen determinado de glóbulos rojos y se calcula como la relación entre la concentración de hemoglobina y el valor del hematocrito.

Los valores normales de estos parámetros están tabulados y varían fundamentalmente en función de la edad y el sexo del individuo. Las desviaciones de estos parámetros con respecto a sus valores normales son especialmente útiles para la caracterización de los distintos tipos morfológicos de anemias.

**Hierro sérico:** El hierro del compartimento de transporte representa menos del 1% del hierro corporal. La interpretación de los niveles de hierro puede llevar a error ya que la sideremia experimenta grandes fluctuaciones puesto que fisiológicamente depende de un ritmo circadiano (durante la noche disminuye de un 20 a un 30%) y además, con la ingesta de alimentos hay un incremento de hierro en la etapa postprandial.

Existen otras situaciones que interfieren en los niveles de hierro, por ejemplo, disminuye en la segunda mitad de embarazo, menstruación, lactancia o adolescencia, en procesos inflamatorios, en el déficit de hierro o la anemia de los procesos crónicos (asociada al bloqueo de hierro en el sistema reticuloendotelial) y aumenta en el caso de transfusiones, intoxicación férrica, hemocromatosis primaria o secundaria y citolisis.

**Transferrina sérica y capacidad de fijación del hierro a la transferrina (CFHT):** Junto con la Saturación de la Transferrina (ST) son parámetros que se relacionan con el intercambio de hierro entre el sistema reticuloendotelial y la médula ósea.

La transferrina es la proteína que transporta el hierro en la circulación y casi todo el hierro plasmático se encuentra unido a ella. Como consecuencia de ello, el contenido de hierro en el suero refleja el número de átomos de hierro unidos a la transferrina.

Cada molécula de transferrina puede unir hasta dos átomos de hierro, razón por la cual la CFHT está relacionada con la fracción de sitios libres que posee la transferrina para el transporte de hierro, por lo que la CFHT es realmente una medida de nivel de la transferrina sérica ya que mide la cantidad de proteínas que fijan el hierro. Se calcula multiplicando la transferrina sérica en g/l por 20. Los niveles de transferrina y CFHT aumentan en el déficit de hierro y disminuyen en la sobrecarga de hierro y en la anemia de los trastornos crónicos.

**Saturación de la transferrina:** La saturación de transferrina nos indica el porcentaje de sitios de unión de la transferrina ocupados por el hierro. Se calcula como la relación entre la sideremia y la CFHT multiplicada por 100 ( $\text{hierro sérico}/\text{CFHT} \times 100$ ). La saturación de transferrina está directamente relacionada con los depósitos de hierro en los individuos sanos y junto con el hierro sérico y la CFHT son particularmente útiles para diferenciar los estados deficitarios de hierro de causas nutricionales con respecto de aquellos que son consecuencia de diferentes patologías (asociadas a procesos de infección e inflamación crónicos).

Los valores normales para estos parámetros están tabulados y dependen fundamentalmente de la edad y sexo del individuo. La saturación de transferrina, igual que la ferritina sérica suele ser mayor en hombres que en mujeres (McLaren et al., 2001). Cuando la saturación de transferrina es baja, hay una aportación pobre de hierro desde el compartimento de transporte a las células que lo necesitan (Bainton y Finch, 1964) además de haber una baja proporción de transferrina diférrica que es la que tiene mayor afinidad por el receptor de transferrina celular. Cuando la saturación de transferrina es elevada puede existir sobrecarga de hierro. En la HH, la sideremia y la saturación de transferrina se elevan antes que la ferritina sérica y por ello son más útiles para detectar de

forma precoz la sobrecarga. Es por ello que la saturación de transferrina es considerada el marcador fenotípico de *screening* más útil para la HH.

**Ferritina sérica:** La saturación de transferrina tiene una estructura similar a la ferritina intracelular pero esta glicosilada. Probablemente se trata de una proteína de excreción aunque su función es desconocida.

La ferritina sérica se encuentra en equilibrio con su forma intracelular y es proporcional al contenido de hierro de los depósitos. Por lo que en los casos de sobrecarga de hierro, la ferritina sérica se encuentra elevada. Sin embargo, la ferritina sérica es un reactante de fase aguda y por ello existen diferentes factores como la infección aguda o crónica, deficiencia de vitamina B12 y ácido fólico, consumo excesivo de alcohol, leucemia o enfermedades hepáticas que producen un aumento significativo de ferritina sérica. Por ello, una concentración alta de ferritina sérica no confirma la sobrecarga de hierro, pero unos niveles normales si permiten descartarla.

Mientras que los valores altos de ferritina sérica no nos pueden dar un diagnóstico claro de sobrecarga de hierro, los valores bajos están asociados a un déficit de hierro en los depósitos, no habiéndose detectado valores falsamente reducidos como consecuencia de otra causa.

La concentración de ferritina sérica suele aumentar con la edad (Zacharski et al., 2000), y es mayor en hombres que mujeres (McLaren et al., 2001). También el sobrepeso y obesidad pueden aumentar la ferritina sérica (síndrome metabólico) (Moirand et al., 1997).

**Receptor soluble de transferrina (RTfs):** Las concentraciones de RTfs correlacionan fundamentalmente con la actividad eritropoyética medular y aumentan sensiblemente en la anemia por déficit de hierro, hemólisis y en general cuando hay un estímulo eritropoyético (Beguin, 2003).

A diferencia de lo que ocurre con otros parámetros, su concentración no está significativamente afectada por la inflamación, infección o enfermedad hepática, por lo que su utilidad clínica radica en su utilización para diferenciar la anemia por déficit de hierro con respecto a otros tipos de anemia como en la enfermedad crónica (Suominen et al., 2000) principalmente en los países y regiones donde la prevalencia de infecciones es elevada.

**Hepcidina:** Se trata de una hormona clave en la regulación del metabolismo del hierro. Se detecta en sérum y orina y sus niveles se encuentran disminuidos en respuesta al déficit de hierro, hipoxia, y aumento de eritropoyesis y aumentados en respuesta al aumento del hierro sérico, sobrecarga de hierro e inflamación (Casanovas et al., 2011; Ganz y Nemeth, 2012). Actualmente, todavía no se han descrito los valores de normalidad para la hepcidina.

La determinación de la hepcidina en serum se puede realizar mediante inmunoensayo con kit ELISA o más recientemente a través de espectrometría de masas (Murphy et al., 2007) y la determinación en orina se realiza mediante la técnica de Western blot (Nemeth, 2003).



# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **HIPÓTESIS**

La lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses de vida favorecerá el correcto desarrollo del niño.

Durante el segundo semestre, los niños alimentados con leche fortificada con dosis alta de hierro presentaran mejores medidas antropométricas y parámetros bioquímicos del hierro, así como un mejor desarrollo cognitivo, que los niños alimentados con la leche fortificada con dosis baja de hierro.

### **OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Valorar el desarrollo del niño durante el primer año de vida en función del tipo de lactancia realizada durante el primer semestre y en función de la dosis de hierro administrada durante el segundo semestre, en lactantes de nuestro entorno.

#### **OBJECTIVOS ESPECÍFICOS**

Describir la evolución de los parámetros antropométricos, del estado en hierro y el desarrollo cognitivo durante el primer año de vida.

Determinar los niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses y su relación con el estado en hierro, el tipo de lactancia y con la dosis de hierro de la leche artificial.

Describir la relación entre las principales alteraciones en el gen de la Hemocromatosis Hereditaria (HFE) y los principales marcadores del estado en hierro.

Analizar el efecto del tipo de lactancia seguida durante los 6 primeros meses de vida sobre el estado en hierro y el desarrollo físico y cognitivo del lactante a los 6 y 12 meses así como el efecto de la dosis de hierro de la leche artificial.



## SUJETOS Y MÉTODOS



## SUJETOS Y MÉTODOS

### 1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio DeFensas está estructurado en dos partes, un estudio longitudinal y un ensayo clínico aleatorio (Figura 6), ambos realizados en una muestra de lactantes reclutados en la Unidad de Pediatría del Hospital Universitari Sant Joan de Reus desde el 2006 hasta el 2009 y seguidos desde el nacimiento hasta el año de vida.

A partir de los 6 meses se diseña un ensayo clínico aleatorio haciendo dos grupos, grupo A y grupo B, suministrándoles leche de continuación fortificada con hierro en diferentes dosis. A los 12 meses se realiza la evaluación de la respuesta.

En el grupo A la suplementación en hierro se realiza mediante leche de continuación fortificada con una dosis en el límite alto aconsejado por organismos internacionales de los 6 a los 12 meses. La leche alta en hierro son 8 mg/100g equivalente a 1,16 mg/100ml de leche.

En el grupo B la suplementación en hierro se realiza mediante leche de continuación fortificada con una dosis en el límite bajo aconsejado por organismos internacionales de los 6 a los 12 meses. La leche baja en hierro son 3,1 mg/100g equivalente a 0,44 mg/100ml de leche.

La asignación se ha efectuado a triple ciego (equipo del estudio, familia del niño y analista de datos). Los productos han sido fortificados por Laboratorios Ordesa, diferenciando una leche de otra por el diseño del embalaje, uno rojo y el otro verde. La colaboración con la empresa ha sido exclusivamente para la cesión de la leche fortificada, con lo que Laboratorios Ordesa no ha participado en el diseño del estudio ni en el análisis de los datos ni conclusiones.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitari Sant Joan de Reus, y todas las familias firmaron un consentimiento informado de acuerdo con la declaración de Helsinki.

La determinación de la hepcidina y la genética ha sido financiada por el proyecto titulado "Estudio del estado de hierro en lactantes en función del gen HFE. Ensayo clínico de suplementación con hierro" que se incluye dentro del programa de

ayudas para el desarrollo de proyectos de investigación del Institut d'Investigació Pere Virgili 2010/2011.

### 2. SUJETOS DEL ESTUDIO

Los participantes en los dos estudios son 129 bebés voluntarios reclutados al nacimiento y seguidos hasta el año de vida.

Los criterios de inclusión y exclusión de ambos diseños fueron los siguientes:

#### Criterios de inclusión:

- Bebés nacidos a término, de raza caucásica, sin ninguna patología conocida, que sus padres o tutores firmaron el consentimiento informado.

#### Criterios de exclusión:

- Familias que no acepten entrar en el seguimiento
- Bebé nacido con bajo peso per edad gestacional o prematuro
- Niños con anemia o enfermedad hemolítica del recién nacido
- Niños que presenten defectos congénitos mayores, inmunosuficiencia o hipotiroidismo
- Niños con otras enfermedades que requieran curas intensivas
- Niños de familias que no entiendan correctamente el catalán o el castellano y/o con hábitos alimentarios culturalmente diferentes
- No haber participado en alguna de las fases del estudio

Durante el transcurso del estudio se han producido pérdidas de participantes. A los 6 meses la pérdida fue del 7,4% de los niños reclutados y el principal motivo fue por falta de interés al llegar el momento de programar la visita y la extracción sanguínea de los 6 meses. A los 12 meses la pérdida fue del 6,5% y los motivos fueron varios, bien por falta de colaboración, falta de datos o bien por enfermedad del niño. Se excluyeron niños que presentaron alergias alimentarias u otras patologías que no permitieron el seguimiento de la intervención.

### 3. PROCEDIMIENTO

La participación en el estudio DeFensas se ofrece a los padres, durante el transcurso del primer día de vida de los niños nacidos en el hospital Sant Joan de Reus, y que cumplen los criterios de inclusión. Una vez obtenido el consentimiento informado firmado, se inician los primeros pasos del estudio.

A los bebés se les hacen diferentes valoraciones durante el primer año de vida (figura 6):

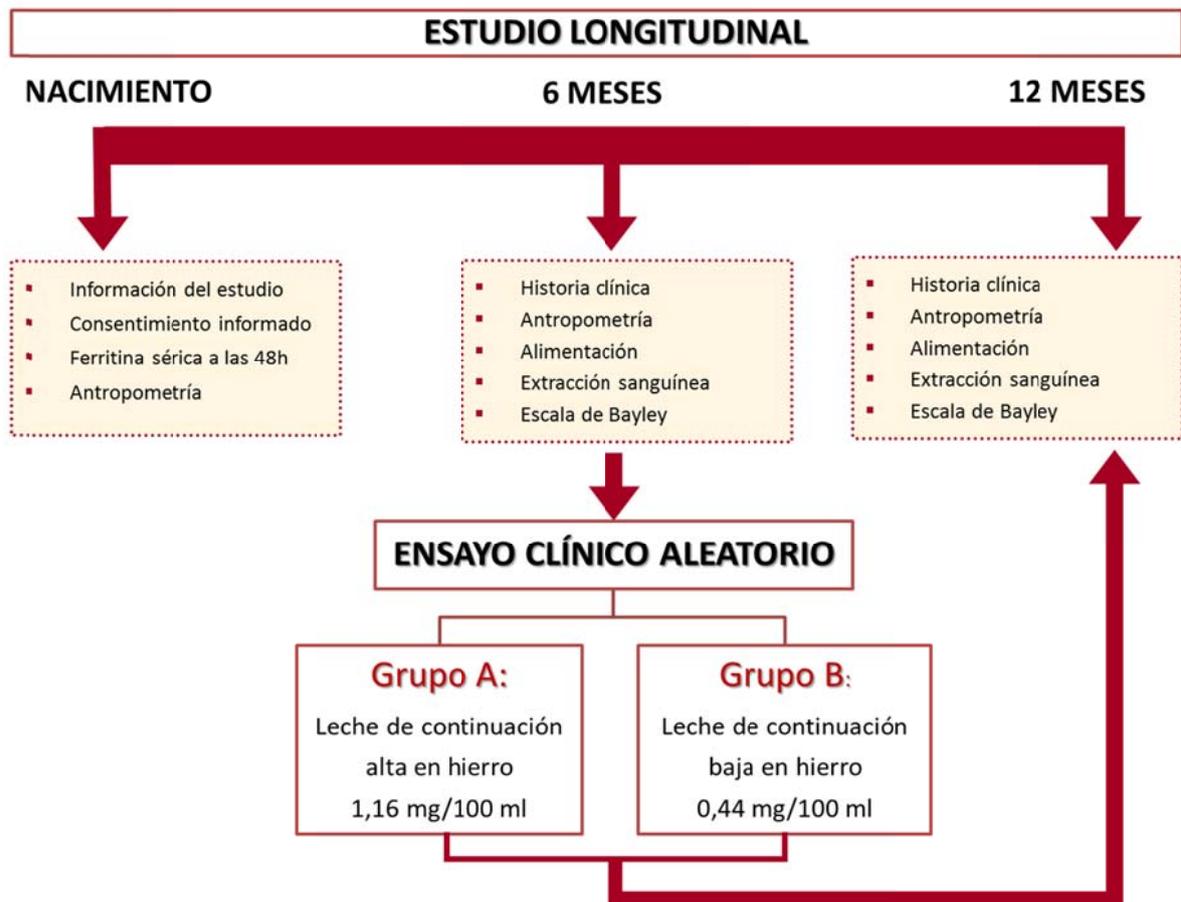
**Nacimiento:** Se determina el valor de la ferritina sérica a las 48h del nacimiento, mediante un pinchazo en el talón, aprovechando la extracción de sangre que se realiza para efectuar las pruebas metabólicas, procedimiento habitual en el ámbito hospitalario. Y se obtienen también las medidas antropométricas (peso, talla y perímetro craneal).

**Visita a los 6 y 12 meses:** Ambas visitas se realizan en los consultorios de pediatría del Hospital Sant Joan de Reus y se registran los datos de la historia clínica habitual, se administra un cuestionario para recoger datos sobre el embarazo y la familia, y se obtienen los valores antropométricos del niño. Además, se les ofrece un registro para conocer el mes en que van introduciendo nuevos alimentos. También en las dos visitas los niños son entrevistados por una psicóloga que les valora el desarrollo infantil mediante la Escala de Bayley.

Unos días antes de las visitas, tanto a los 6 como a los 12 meses, se les realiza una extracción sanguínea para obtener las determinaciones bioquímicas del estado en hierro: perfil hematológico completo, hierro sérico, transferrina sérica, ferritina sérica y hepcidina.

En medio de estas valoraciones se realizaron visitas de seguimiento con el objetivo de asegurar la continuación en el estudio, realizadas al mes, a los 3 meses y a los 9 meses.

Figura 6. Diseño y desarrollo del estudio



## 4. MÉTODOS UTILIZADOS

### 4.1 HISTORIA CLÍNICA

La historia clínica se elaboró para el estudio por dos pediatras y dos nutricionistas y contenía los siguientes datos:

- *Datos sociodemográficos:* edad, nivel socioeconómico y cultural de los padres así como sus antecedentes clínicos, personales y familiares (Anexo III).

- *Características generales de la madre y del recién nacido:* datos del embarazo, tipo de parto, sexo, APGAR (Anexo II).
- *Medidas antropométricas:* peso, talla y perímetro craneal (Anexo IV).
- *Registro de lactancia:* tipo de lactancia seguida por el bebé desde el nacimiento (Anexo V y VI).

Para la realización de la historia clínica, los pediatras, psicólogas y nutricionistas entrevistadores siguieron un método de estandarización de recogida de las variables de interés en el estudio. La variabilidad de las medidas entre observador e interobservador fueron inferiores al 5%.

#### 4.1.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Las medidas antropométricas las realizaron personal previamente estandarizado y fueron las siguientes:

**Peso:** la medición del peso se realizó mediante una báscula romana SECA (Vogel & Halke GmbH & Co, Hamburg) con 5 gramos de precisión. Los niños se pesaron desnudos, colocados encima de la báscula y sin apoyar en ningún sitio.

**Talla:** la medición de la talla se realizó mediante un tallímetro "Perspective Enterprises Measuring Equipment" modelo PE-RILB-STND con un rango de medida de 12,5 a 99 cm y con una precisión de 1 mm. Los niños se tallaron encima de la tabla de medición puesta de forma horizontal sobre la camilla, en ropa interior y sin calcetines. La cabeza se posicionaba en el extremo fijo del tallímetro y esta era sujeta por un progenitor o tutor a la vez que el pediatra o nutricionista sujetaba las rodillas y desplazaba la barra vertical hasta que ésta tocaba la planta del pie.

Con el peso y la talla se calculó el Índice de Masa Corporal:  $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (m)}$ .

**Perímetro craneal:** la medición se realizó con una cinta métrica flexible con una precisión de 1 mm. El niño se sentó en la camilla o lo sostuvo en brazos del progenitor o tutor y la cinta se colocó rodeando la cabeza, sobre las prominencias frontal y occipital buscando el perímetro máximo.

#### 4.1.2 TEST DE APGAR

En la recogida de datos del parto se registró el resultado del test de Apgar, prueba que se realiza para valorar el estado general del neonato después del parto.

El test evalúa cinco parámetros fisiológicos: frecuencia cardíaca, respiración, tono muscular, reflejos y color de la piel. A cada parámetro se le asigna una puntuación entre 0 y 2 (Tabla 10), sumando las cinco puntuaciones se obtiene el resultado del test. La prueba se realiza al minuto de nacer y se repite a los 5 y a los 10 minutos.

El nombre del test se debe a la anestesióloga Virginia Apgar, quién lo ideó, pero a la vez se puede usar como acrónimo recordando los cinco criterios evaluados: apariencia, pulso, gesticulación, actividad y respiración.

**Tabla 10. Puntuaciones de los parámetros evaluados por el Test de Apgar**

	PUNTUACIONES		
	0	1	2
<b>Frecuencia cardíaca, (pulsaciones/minuto)</b>	Ausente	< 100	> 100
<b>Respiración</b>	Ausente	Llanto débil, hipoventilación	Buena, llanto fuerte
<b>Tono muscular</b>	Ninguno	Alguna flexión	movimiento activo
<b>Reflejo de irritabilidad</b>	Sin respuesta	Muecas	Grito o pataleo
<b>Color de la piel</b>	Azul o pálido	Cuerpo rosado, extremidades azules	Todo rosado

Fuente: Adaptado de Finster y Good, 2005.

## 4.2 VALORACIÓN DE LOS HÁBITOS ALIMENTARIOS

Durante el transcurso del estudio se valoraron los hábitos alimentarios de los niños. A lo largo del primer año de vida del bebé se registró en la entrevista de los 6 y 12 meses el tipo de lactancia seguida, anotando el momento de cambio de lactancia materna a artificial o mixta, el cese de la lactancia materna y el cambio de leche de inicio por leche de continuación.

A la vez se facilitó a la familia el cuestionario donde anotar el mes de introducción de nuevos alimentos en la dieta del niño (Anexo V y VI).

## 4.3 OBTENCIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS

Las extracciones sanguíneas se realizaron en el Hospital Sant Joan de Reus a primera hora de la mañana. La sangre se procesó y conservó en el laboratorio de investigación del mismo hospital (Laboratori Biobanc- IRCIS).

A las 48 horas del nacimiento se realizó una punción en el talón para extraer 0.5 ml de sangre para determinar la ferritina.

A los 6 y 12 meses de edad se extrajeron por venopunción 6 ml de sangre en dos tubos: un tubo con anticoagulante EDTA-K2 de 3 ml y otro tubo con sérum sin anticoagulante de 3 ml.

El tubo de sérum se mantiene sin mezclar durante 30 minutos a temperatura ambiente, para facilitar la coagulación. A continuación se separa el sérum para guardar en alícuotas de 1 ml a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posteriormente realizar las determinaciones del estado en hierro.

Del primer tubo (EDTA-K2) se determinó el hematocrito, la hemoglobina, los índices eritrocitarios, los leucocitos y los linfocitos en sangre total. El plasma y los eritrocitos se separaron centrifugando durante 15 minutos a 2000 revoluciones y a  $4^{\circ}\text{C}$ . El plasma sobrenadante se extrajo con cuidado de no aspirar la capa fina de leucocitos que la separa de los eritrocitos, posteriormente se alícuotó en criotubos y se guardó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de las determinaciones de TBARS plasmáticos y test de ORAC. Los leucocitos también se guardaron hasta el aislamiento de ADN.

Del segundo tubo, el suero se separó y guardó de la misma forma explicada para el primer tubo. En el suero se realizaron las determinaciones de ferritina sérica, hierro sérico y transferrina sérica y se aislaron los linfocitos y se guardaron a -150°C para realizar las determinaciones genéticas (alteraciones C282Y, H63D y S65C del gen HFE).

#### 4.4 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS DEL ESTADO EN HIERRO

Para el análisis de la ferritina, hierro y transferrina sérica se utiliza el analizador automático Beckman-Coulter. El equipo está controlado por un ordenador que constituye la unidad de gestión con la que el analizador puede estar conectado online con el sistema informático general del laboratorio. También permite la identificación positiva de la muestra con un código de barras, que nos da la ventaja de trabajar con el tubo primario.

Mediante la técnica se determina:

- La ferritina sérica mediante reacción inmunoquímica (inmnoturbidimetria látex). El reactivo de ferritina es una suspensión de partículas de látex de poliestireno, recubiertas de anticuerpos de la fracción Ig G de sérum específico anti-ferritina humana. En contacto con la muestra que contiene ferritina, esta se aglutina y se realiza la lectura por inmnoturbidimetria a 570 nm. (Gómez et al., 2000).
- Hierro sérico en serum mediante la reacción química de Ferene: El reactivo contiene hidroxilamina, tiourea y ferene (5,5' (3-(2-pyridil)-1,2,4-triazine-5,6 diyl)-bis-2-furansulfonic acid, disodium salt). El pH ácido libera el hierro de la transferrina en medio ácido y se reduce de hierro 3<sup>+</sup> a hierro 2<sup>+</sup> mediante la hidroxilamina. El hierro 2<sup>+</sup> reacciona con el compuesto Ferene formando un complejo de color que absorbe la luz a 600 nm (ITC Diagnostics i Biokit S.A. Barcelona, respectivamente).
- Transferrina sérica mediante inmunoprecipitación en fase líquida con una lectura trubidimétrica a punto final (510 nm). Un antisérum antitransferrina se diluye en tampón y se incuba con el sérum del sujeto. El descenso en la transmisión de la luz causada per la formación de complejos antígeno-anticuerpo

es directamente proporcional a la concentración de transferrina de la muestra (Biokit S.A., Barcelona).

▫ Mediante el autoanalizador Beckman-Coulter también se determina la hemoglobina, el hematocrito, el volumen corpuscular medio, la hemoglobina corpuscular media y la concentración de hemoglobina corpuscular media.

Se generó la siguiente variable:

▫ Capacidad de Saturación de la Transferrina: Se calculó, una vez obtenida la CFTH, multiplicando el cociente hierro sérico/CFTH y multiplicándolo por 100 expresándose, por tanto, en porcentaje.

#### 4.4.1 CRITERIOS UTILIZADOS DE DÉFICIT DE HIERRO Y ANEMIA

Hemos definido los siguientes criterios de reservas agotadas de hierro, déficit y anemia según los niveles determinados por diferentes organismos internacionales (Nicholson, 2004; WHO, 2001; Center of Disease Control and Prevention, 1998).

*Reservas agotadas de hierro al nacer:* FS < 25µg/L

*Reservas agotadas de hierro a los 6 y 12 meses:* FS < 12µg/L

*Déficit de hierro:* FS < 12µg/L y VCM < 70 fl o ST < 10%

*Anemia:* Hb < 11g/dL

*Anemia ferropénica:* Hb < 11g/dL y un parámetro de los anteriores alterado

#### 4.5 DETERMINACIÓN DE LA HEPCIDINA

La determinación de la hepcidina se realizó con plasma mediante el kit "DRG Hpcidine ELISA" de inmunoensayo enzimático basado en el principio de unión competitiva. Los micropocillos del kit están recubiertos por un anticuerpo monoclonal específico para hepcidina bioactiva. La hepcidina de las muestras sanguíneas compite con la hepcidina-biotina conjugada que se añade al kit para unirse al anticuerpo. Después de la incubación se realiza un primer lavado. Seguidamente se aplica una segunda incubación añadiendo el complejo

enzimático de estreptavidina peroxidasa y se realiza un segundo lavado. Al añadir una solución de sustrato va apareciendo un color hasta que se para después de una corta incubación. La intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de hepcidina de la muestra.

Para la realización del ensayo tanto los reactivos como las muestras deben estar a temperatura ambiente para la determinación.

#### **4.6 DETERMINACIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN HFE**

Se determinaron los polimorfismos C282Y (mutación G845A), H63D (mutación C187G) (Jouanolle et al., 1997) y S65C (mutación A193T) (Mura et al., 1999) del gen HFE de la HH, mediante la técnica de PCR (Polimerase Chain Reaction). La ausencia de mutaciones se definió como genotipo salvaje WT (Wild Type).

El análisis del gen HFE se realizó mediante el DNA extraído de los leucocitos de sangre periférica conservados con Cell Lysis Solution y a temperatura ambiente, obtenidos a partir de 10 mL de sangre periférica total recogida en tubos de EDTA.

Para la obtención de los genotipos recurrimos a la técnica de PCR (Polimerase chain reaction) mediante el termociclador DNA thermal cycler 2400, Perkin Elmer, con el fin de amplificar "in vitro" los exones correspondientes a las regiones del gen portadoras de las mutaciones. Esta amplificación la lleva a cabo la enzima taq polimerasa junto con el resto de elementos que, generalmente intervienen en la reacción: DNA molde, oligonucleótidos, tampón de PCR, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs y H<sub>2</sub>O estéril.

Una vez ampliada nuestra secuencia, se realizó una digestión enzimática mediante enzimas de restricción, posteriormente se realizó una separación electroforética mediante geles del 12% de poliacrilamida al 12% (29: 1,25 Acril-bis).

En cada electroforesis se pusieron marcadores de peso molecular apropiados al tamaño de la banda que se quiso amplificar, en este caso se utilizó únicamente marcadores de peso molecular 50 kb. Finalmente, se realizó una tinción del gel

con Nitrato de Plata, que se basa en la reducción de los iones de plata, de forma que permite visualizar los diferentes fragmentos de DNA para así observar los diferentes genotipos.

Los *primers* utilizados para las mutaciones H63D y S65C son los mismos, debido a la cercanía de dichas mutaciones en el gen.

#### **4.7 DETERMINACIÓN DEL DESARROLLO PSICOLÓGICO**

El desarrollo de los bebés se determinó mediante la Escalera de Bayley de desarrollo infantil, prueba de referencia estandarizada para la evaluación de la cognición infantil y las habilidades motoras del niño. Los elementos de la prueba se organizan en grupos por edad con la finalidad de evaluar edades específicas.

La prueba consta de tres escalas diferenciadas que contribuyen a evaluar el desarrollo del niño en los primeros dos años y medio de vida. La primera, Escala Mental, aprecia aspectos relacionados con el desarrollo cognitivo y la capacidad de comunicación. La Escala de Psicomotricidad evalúa el grado de coordinación corporal, así como habilidades motrices finas en manos y dedos y por último el Registro del Comportamiento permite analizar la naturaleza de las orientaciones sociales y objetivas hacia el entorno.

La puntuación de las escalas nos da el Índice de Desarrollo Mental (IDM) y el Índice de Desarrollo Psicomotor (IDP). Se define como retraso del desarrollo cuando las Puntuaciones de Bayley de IDM y IDP son inferiores a 85 y el rango de normalidad oscila entre 85 y 115 puntos (Bayley, 1993).

#### **5. MÉTODOS ESTADÍSTICOS**

Las variables estudiadas se recogieron en una base de datos del programa Excel y se han tratado con el paquete estadístico SPSS para windows versión 19.0.

Los resultados se presentan como porcentajes e intervalos de confianza al 95% y como medias y desviaciones estándar. Se utilizaron los test de la t de Student y

el análisis de la varianza con la prueba de Scheffé para la comparación de medias y el chi-cuadrado para comparar variables categóricas.

En los casos en los que no se cumplieron los criterios de aplicación se aplicaron las pruebas no paramétricas correspondientes.

Se realizaron diferentes modelos de Regresión Lineal Múltiple para explicar el efecto de tipo de lactancia y del tipo de leche fortificada en hierro, a dosis alta o baja (variables independientes), sobre las principales variables del desarrollo del niño como variables dependientes. Se realizó un modelo para explicar cada una de las variables dependientes siguientes: el IMC como variable de desarrollo antropométrico, la hemoglobina y la ferritina sérica como marcadores clásicos del estado de hierro, la hepcidina como marcador emergente del estado de hierro, y el Índice de Desarrollo Mental y el Índice de Desarrollo Psicomotor como variables del desarrollo psicológico. Todos los modelos se ajustaron por las siguientes variables relacionadas con el desarrollo global del niño: sexo, nivel socioeconómico, edad gestacional, peso, talla y perímetro craneal, ferritina sérica, hemoglobina, hepcidina y presencia de alteración genética.

En todos los casos se ha aceptado un nivel de significación de  $p < 0.05$ .

# RESULTADOS



## RESULTADOS

### 1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

#### 1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MADRE

La muestra del estudio está formada por 129 niños nacidos en el Hospital Universitari Sant Joan de Reus, de los cuales el 47,4% son niños y el 52,6% son niñas.

En la tabla 11 se describen las características generales de las madres y el tipo de parto. El 52% de la muestra pertenece a un nivel socioeconómico medio y el 63,8% de los partos fueron eutócicos.

**Tabla 11. Descripción de las características generales de la madre**

		<b>N=129</b>
Edad de la madre, años		31,9 (4,7)
Nivel socioeconómico, %	Bajo	7,2
	Medio	52
	Alto	40,8
Fumadoras, %		23,6
Tipo de parto, %	Eutócico	63,8
	Fórceps	15,6
	Cesárea	20,7
Primíparas, %		51,7
Edad gestacional, semanas		39,7 (1,41)

Los valores se expresan como media (Desviación Típica) o porcentaje

#### 1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL NIÑO DURANTE EL PRIMER AÑO DE VIDA

Durante el primer año de vida se describen los parámetros antropométricos, la alimentación, el estado en hierro y el desarrollo cognitivo del niño.

De todos los bebés se registraron las puntuaciones del test de Apgar, obteniendo una media (DS) de 8,71 (1,12) puntos al minuto uno, 9,68 (1,06) al minuto cinco y 9,83 (1,14) al minuto diez.

### **1.2.1 PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS**

En la tabla 12 se describen las características antropométricas de los niños al nacer, a los 6 y a los 12 meses según el sexo. A su vez se muestran los valores medios del percentil 50 según el Patrón de Crecimiento Infantil de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2006).

Se observa, en general que los niños son más grandes que las niñas por lo que respecta al peso y la talla. A los 12 meses también se observa un perímetro craneal superior en los niños.

**Tabla 12. Datos antropométricos al nacer y a los 6 y 12 meses**

		NIÑOS <sup>(a)</sup> n= 61			NIÑAS <sup>(b)</sup> n= 68			TOTAL n= 129		
		Media	DT	P50*	Media	DT	P50*	p <sup>(a-b)</sup>	Media	DT
<b>0 MESES</b>	Peso (g)	3318,45	323,52	3300	3210,49	362,80	3200	0,056	3260,92	348,10
	Talla (cm)	49,80	1,58	49,90	48,84	2,22	49,10	0,003	49,29	2,00
	Perímetro craneal (cm)	34,45	1,56	34,50	34,10	1,23	33,90	0,130	34,26	1,40
	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	13,37	1,20	13,40	13,45	1,00	13,30	0,678	13,41	1,10
<b>6 MESES</b>	Peso (g)	8042,78	769,47	7.900	7627,83	809,51	7300	0,003	7825,87	814,66
	Talla (cm)	68,18	2,20	67,60	65,74	4,51	65,70	<0,001	66,91	3,79
	Perímetro craneal (cm)	44,06	1,18	43,30	43,69	4,55	42,20	0,532	43,87	3,36
	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,28	1,20	17,30	18,02	4,79	16,90	0,223	17,67	3,57
<b>12 MESES</b>	Peso (g)	10188,63	1111,15	9600	9734,38	1051,68	8900	0,027	9935,83	1097,32
	Talla (cm)	76,37	2,80	75,70	75,15	2,89	74,00	0,027	75,68	2,90
	Perímetro craneal (cm)	46,79	1,39	46,10	45,77	1,17	44,90	<0,001	46,23	1,37
	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,54	1,39	16,80	17,25	1,80	16,40	0,358	17,38	1,63

DT: desviación típica; IMC: índice de masa corporal.

\*Datos extraídos de la curvas de crecimiento de la OMS (OMS, 2006).

### 1.2.2 HÁBITOS ALIMENTARIOS

En la tabla 13 se muestra el mes en el que los niños del estudio han introducido la alimentación complementaria (también llamada beikost) durante el primer año. En la figura 7 se compara el mes de introducción con las recomendaciones establecidas por la Generalitat de Catalunya para población catalana (Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya, 2009). Observamos que la población estudiada introduce antes de lo recomendado los cereales sin gluten, la fruta, la carne de pollo o pavo, el pescado y la clara de huevo.

**Tabla 13. Meses de introducción de los alimentos**

	Media	DT	Mínimo	Máximo
Lactancia artificial 1 (inicio)	1,72	2,14	0	6
Lactancia artificial 2 (continuación)	6,26	1,11	2	10
Cereales sin gluten	4,78	1,08	2	10
Cereales con gluten	7,03	1,29	4	11
Fruta	4,67	1,01	3	10
Verdura	6,16	0,76	4	10
Pollo o Pavo	6,36	0,92	4	11
Carne roja	7,40	1,25	5	11
Pescado blanco	8,70	1,30	5	12
Pescado azul	10,68	2,15	5	13
Yema de huevo	10,32	1,24	7	13
Clara de huevo	11,23	1,21	8	13
Legumbres	9,98	1,58	5	13

DT: desviación típica

**Figura 7. Introducción de los alimentos de los niños de nuestro estudio**

	Mes de introducción												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Leche materna</b>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
<b>Leche de inicio</b>	■	■	■	■	■	■	■						
<b>Leche de continuación</b>							■	■	■	■	■	■	■
<b>Cereales sin gluten</b>						■	■	■	■	■	■	■	■
<b>Cereales con gluten</b>								■	■	■	■	■	■
<b>Fruta</b>				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
<b>Verdura</b>							■	■	■	■	■	■	■
<b>Pollo o Pavo</b>							■	■	■	■	■	■	■
<b>Carne roja</b>								■	■	■	■	■	■
<b>Pescado blanco</b>									■	■	■	■	■
<b>Pescado azul</b>											■	■	■
<b>Yema de huevo</b>											■	■	■
<b>Clara de huevo</b>												■	■
<b>Legumbres</b>											■	■	■

■ Mes de introducción de los niños del estudio

■ Mes de introducción recomendado por el Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya

### 1.2.3 ESTADO BIOQUÍMICO DEL HIERRO

Al nacer, los niveles medios de ferritina sérica de la muestra son de  $268,64 \pm 129,85 \mu\text{g/L}$  ( $251,30 \pm 118,83 \mu\text{g/L}$  en niñas y  $287,57 \pm 142,09 \mu\text{g/L}$  en niños).

En la tabla 14 se describe el estado bioquímico del hierro a los 6 meses en función del sexo. A los 6 meses, las niñas presentan mayores niveles de VCM, HCM y dispersión del volumen de eritrocitos que los niños, así como menor porcentaje de valores bajos de VCM.

**Tabla 14. Descriptiva del estado bioquímico del hierro a los 6 meses**

	NIÑOS <sup>(a)</sup> n = 61		NIÑAS <sup>(b)</sup> n = 68		p <sup>(a-b)</sup>	TOTAL n = 129	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Hematocrito (%)	34,16	2,99	35,05	2,52	0,085	34,44	2,74
Hemoglobina (g/dl)	11,52	0,99	11,84	0,85	0,063	11,65	0,90
Hematíes (x10E12L)	4,47	4,47	4,46	0,32	0,817	4,45	0,33
VCM (fl)	76,42	4,89	78,74	3,25	0,003	77,54	4,05
HCM (pg)	25,90	1,85	26,68	1,26	0,008	26,32	1,56
CHCM (g/dl)	33,88	0,89	33,88	0,84	0,997	33,93	0,89
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,40	1,70	13,79	1,40	0,037	14,05	1,54
Hierro sérico ( $\mu\text{mol/L}$ )	11,14	5,22	11,36	4,53	0,809	11,01	4,73
Ferritina sérica ( $\mu\text{g/L}$ )	31,85	20,49	39,00	31,47	0,144	36,82	27,28
Transferrina (g/L)	2,64	0,39	2,52	0,46	0,132	2,57	0,42
Saturación de Transferrina (%)	16,76	8,22	17,44	8,25	0,657	16,84	7,94
FS < 12 $\mu\text{g/L}$ , %	7,7		10,0		0,638	8,9	
VCM < 70 fl, %	6,2		0		0,051	3,0	
ST < 16 %, %	47,7		44,3		0,691	45,9	
Anemia Hb < 11g/dl %	21,5		18,6		0,667	20,0	
Déficit de Hierro, %	4,6		4,4		0,638	4,5	
Anemia Ferropénica, %	17,2		17,4		0,975	17,3	

DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS < 12  $\mu\text{g/L}$ , VCM < 70 fl, ST < 16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS < 12  $\mu\text{g/L}$ , VCM < 70 fl, ST < 16 %).

En la tabla 15 se describe el estado bioquímico del hierro a los 12 meses en función del sexo. A los 12 meses, los niños presentan niveles superiores de hematófies y ferritina sérica de forma significativa respecto a las niñas, así como menor prevalencia de déficit de hierro.

**Tabla 15. Descriptiva del estado bioquímico del hierro a los 12 meses**

	NIÑOS <sup>(a)</sup>		NIÑAS <sup>(b)</sup>		p <sup>(a-b)</sup>	TOTAL	
	n = 61		n = 68			n = 129	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Hematocrito (%)	36,09	3,46	35,46	2,16	0,217	35,70	2,83
Hemoglobina (g/dl)	12,18	1,16	11,93	0,77	0,165	12,03	0,97
Hematíes (x10E12L)	4,62	0,32	4,46	0,30	0,003	4,53	0,32
VCM (fl)	78,13	5,73	79,74	3,89	0,069	78,98	4,82
HCM (pg)	26,36	2,01	26,84	1,55	0,137	26,62	1,77
CHCM (g/dl)	33,73	0,65	38,14	36,60	0,374	36,12	26,90
Dispersión volumen eritrocitos (%)	15,34	1,45	14,72	1,49	0,023	14,99	1,49
Hierro sérico (µmol/L)	11,20	4,88	12,09	4,83	0,323	11,69	4,82
Ferritina sérica (µg/L)	30,74	36,98	20,66	9,92	0,058	25,45	26,12
Transferrina (g/L)	2,64	0,31	2,68	0,40	0,566	2,65	0,37
Saturación de Transferrina (%)	16,67	7,40	17,59	7,95	0,516	17,23	7,65
FS < 12 µg/L, %	11,1		21,2		0,140	16,7	
VCM<70 fl, %	1,8		3,0		0,562	2,5	
ST<16 %, %	51,9		45,5		0,485	48,3	
Anemia Hb < 11g/dl %	1,8		9,1		0,084	5,7	
Déficit de Hierro, %	3,7		13,8		0,057	9,2	
Anemia Ferropénica,%	1,9		6,2		0,244	4,2	

DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %).

### 1.2.4 HEPCIDINA

En la tabla 16 se describen los niveles medios de hepcidina a los 6 y 12 meses. No se observan diferencias significativas en los niveles de hepcidina entre niños y niñas. Se observa un aumento significativo de los niveles de hepcidina de los 6 a los 12 meses en ambos sexos.

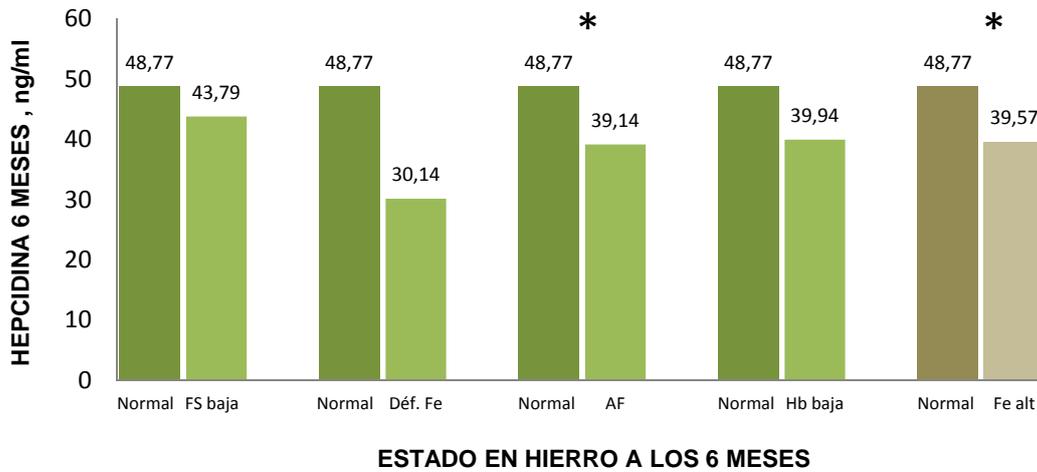
**Tabla 16. Niveles de hepcidina según sexo y edad**

	NIÑOS <sup>(a)</sup>		NIÑAS <sup>(b)</sup>		p <sup>(a-b)</sup>	TOTAL	
	n = 61		n = 68			n = 129	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
<b>Hepcidina 6M</b> (ng/mL) <sup>(c)</sup>	44,78	16,24	48,27	23,65	0,371	46,61	20,33
<b>Hepcidina 12M</b> (ng/mL) <sup>(d)</sup>	54,16	26,13	58,3	26,01	0,357	56,26	25,83
p valor <sup>(c-d)</sup>	0,004		<0,001			<0,001	

DT: desviación típica

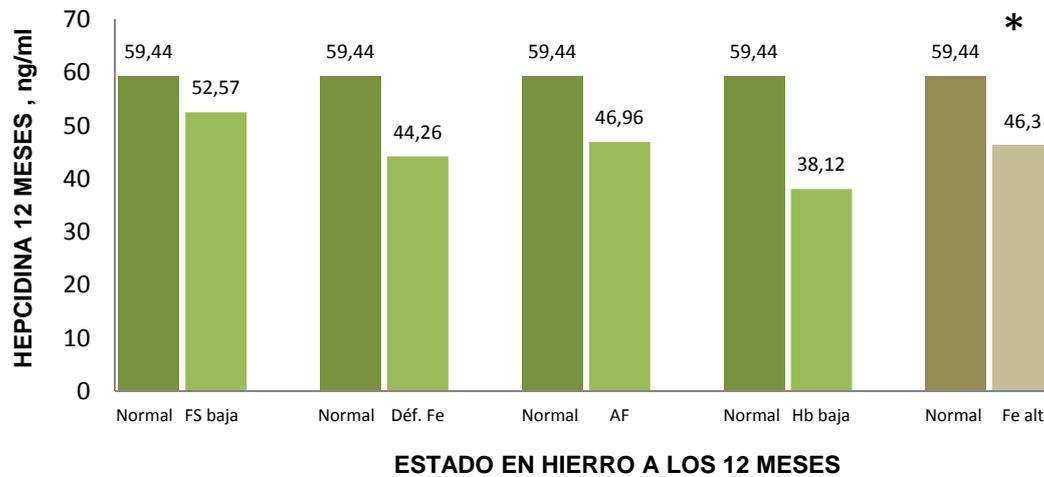
En las figuras 8 y 9 se muestran los niveles de hepcidina en función del estado de hierro del lactante a los 6 y 12 meses. Los sujetos con algún estado deficitario de hierro presentan menores niveles de hepcidina que aquellos cuyo estado de hierro es normal.

**Figura 8. Relación entre los niveles de hepcidina con el estado de hierro a los 6 meses**



Normal: ningún parámetro alterado; FS baja: ferritina sérica  $<12\mu\text{g/L}$ ; Déf Fe: déficit de hierro (dos de los siguientes parámetros alterados (FS  $<12\mu\text{g/L}$ , VCM $<70\text{ fl}$ , ST $<16\%$ ); AF: anemia ferropénica (Hb baja + déficit de hierro); Hb baja: Hemoglobina  $<11\text{g/dl}$ ; Fe alt: cualquier parámetro del hierro alterado (FS, Hb, VCM, ST); \*:  $p < 0.05$ .

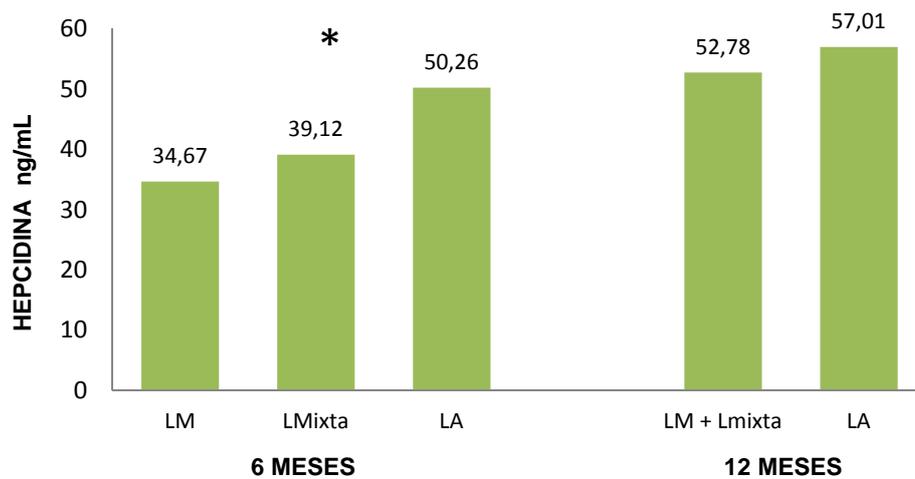
**Figura 9. Relación entre los niveles de hepcidina con el estado de hierro a los 12 meses**



Normal: ningún parámetro alterado; FS baja: ferritina sérica  $<12\mu\text{g/L}$ ; Déf Fe: déficit de hierro (dos de los siguientes parámetros alterados (FS  $<12\mu\text{g/L}$ , VCM $<70\text{ fl}$ , ST $<16\%$ ); AF: anemia ferropénica (Hb baja + déficit de hierro); Hb baja: Hemoglobina  $<11\text{g/dl}$ ; Fe alt: cualquier parámetro del hierro alterado (FS, Hb, VCM, ST); \*:  $p < 0.05$ .

En la figura 10 se muestra los niveles de hepcidina en función del tipo de lactancia a los 6 y a los 12 meses. A los 6 meses, los niños que realizan lactancia artificial presentan mayores niveles de hepcidina que aquellos que realizan lactancia materna y/o mixta. A los 12 meses, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

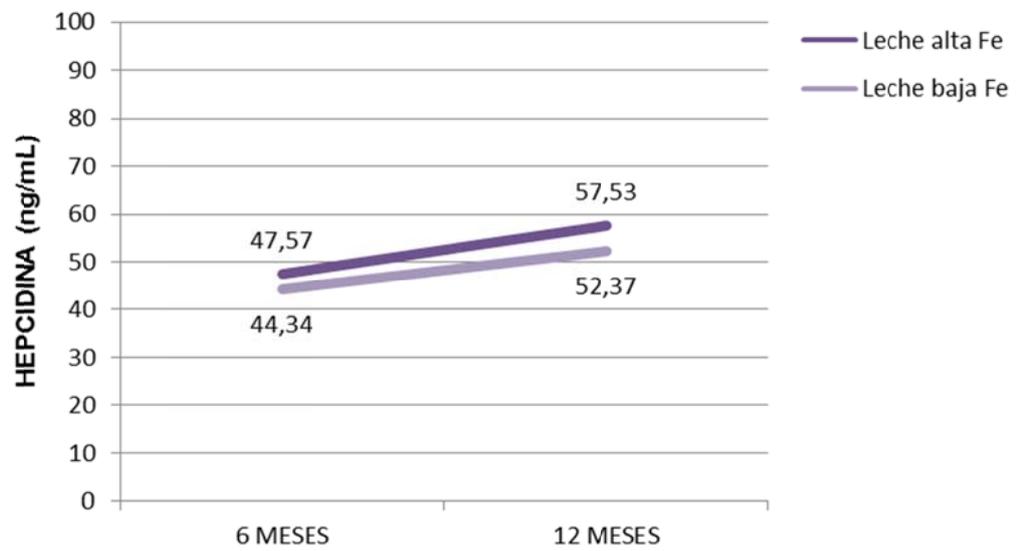
**Figura 10. Niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses en función del tipo de lactancia**



LM: lactancia materna; Lmixta: lactancia mixta; LA: lactancia artificial; \* $p < 0.05$  entre LM+LMixta y LA a los 6 meses.

En la figura 11 se muestran los niveles de hepcidina y su evolución de los 6 a los 12 meses según el tipo de leche ingerida (alta o baja en hierro).

**Figura 11. Niveles de hepcidina y su evolución de los 6 a los 12 meses en función del tipo de leche ingerida (alta o baja en hierro)**



No se observan diferencias significativas en los niveles de hepcidina según tomen leche alta o baja en hierro y la evolución de dichos niveles de los 6 a los 12 meses es similar.

### 1.2.5 DESARROLLO COGNITIVO

En la tabla 17 se muestran los resultados del índice de desarrollo mental y el índice de desarrollo psicomotor, por edad y sexo. No se observan diferencias significativas entre niños y niñas durante el primer año de vida.

**Tabla 17. Descriptiva del IDM y IDP según edad y sexo**

		NIÑOS n= 61		NIÑAS n= 68			TOTAL n= 129	
		Media	DT	Media	DT	p	Media	DT
<b>6 Meses</b>	IDM	94,38	8,81	94,21	12,04	0,921	93,86	11,23
	IDP	84,97	14,32	86,06	14,85	0,650	85,40	14,47
<b>12 Meses</b>	IDM	98,85	11,28	96,94	16,41	0,449	97,99	14,18
	IDP	88,07	11,81	88,73	17,37	0,803	88,47	14,93

DT: desviación típica, IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

## **2. DESARROLLO DEL NIÑO SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO A LOS 6 Y 12 MESES**

Se han clasificado los sujetos de estudio en dos grupos según su estado en hierro, siendo normal cuando no hay ningún parámetro alterado, y deficitario cuando los sujetos presentan algunos de los parámetros estudiados alterados.

### **2.1 DESARROLLO DEL NIÑO SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO A LOS 6 MESES**

En la tabla 18 se muestran los parámetros antropométricos, los parámetros bioquímicos del hierro y el desarrollo cognitivo de los sujetos según si el estado en hierro es normal o hay algún parámetro alterado a los 6 meses.

**Tabla 18. Desarrollo del niño a los 6 meses según el estado en hierro a los 6 meses**

	Fe NORMAL		DÉFICIT Fe		p
	n = 106		n = 23		
	Media	DT	Media	DT	
Peso (g)	7949,68	924,59	7590,43	670,43	0,080
Talla (cm)	66,92	4,08	67,17	2,67	0,778
Perímetro craneal (cm)	43,98	3,66	43,28	1,44	0,370
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,96	3,87	16,82	1,22	0,167
Hematocrito (%)	35,15	2,33	30,86	1,27	<0,001
Hemoglobina (g/dL)	11,94	0,76	10,40	0,58	<0,001
Hematíes (x10E12L)	4,50	0,31	4,19	0,29	<0,001
VCM (fl)	78,29	3,26	73,96	5,43	<0,001
HCM (pg)	26,59	1,22	24,96	2,27	<0,001
CHCM (g/dL)	33,97	0,86	33,70	1,03	0,179
Dispersión volumen eritrocitos (%)	13,85	1,23	14,96	2,35	0,034
Hierro sérico (µmol/L)	11,86	4,55	7,09	3,09	<0,001
Ferritina sérica (µg/L)	38,47	27,79	26,20	18,21	0,045
Transferrina sérica (g/L)	2,54	0,38	2,75	0,48	0,019
Saturación de Transferrina (%)	18,23	7,79	10,66	5,31	<0,001
Hepcidina (ng/mL)	47,93	20,82	39,15	9,44	0,006
IDM 6M	94,49	10,89	88,77	14,04	0,035
IDP 6M	85,11	14,52	86,41	15,89	0,707

DT: desviación típica; Fe Normal: ningún parámetro del hierro alterado; Déficit Fe: algún parámetro del hierro alterado (FS <12 µg/L o VCM<70 fl o ST<16 % o Hb <11 g/dL); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

A nivel bioquímico se observan diferencias en la mayoría de parámetros. A nivel cognitivo, los niños que presentan déficit de hierro a los 6 meses obtienen menor puntuación de IDM que los niños con un buen estado de hierro.

En la tabla 19 se muestra el desarrollo del niño a los 12 meses según el estado de hierro que presentaba a los 6 meses.

**Tabla 19. Desarrollo del niño a los 12 meses según el estado en hierro a los 6 meses**

	Fe NORMAL n = 107		DÉFICIT Fe n = 22		p
	Media	DT	Media	DT	
Peso (g)	10075,84	1227,54	9865,26	1015,21	0,483
Talla (cm)	75,77	2,95	75,61	2,66	0,827
Perímetro craneal (cm)	46,34	1,47	46,03	1,27	0,386
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,53	1,62	17,35	2,11	0,689
Hematocrito (%)	36,06	2,85	33,93	2,63	0,003
Hemoglobina (g/dL)	12,14	0,97	11,43	0,90	0,003
Hematíes (x10E12L)	4,55	0,31	4,45	0,38	0,215
VCM (fl)	79,38	4,72	76,54	4,91	0,016
HCM (pg)	26,72	1,72	25,78	1,89	0,030
CHCM (g/dL)	33,66	0,55	33,68	0,81	0,893
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,86	1,33	15,76	1,98	0,065
Hierro sérico (µmol/L)	11,78	4,65	10,56	4,31	0,282
Ferritina sérica (µg/L)	26,46	29,20	20,99	11,34	0,413
Transferrina sérica (g/L)	2,63	0,37	2,77	0,35	0,147
Saturación de Transferrina (%)	17,38	7,35	14,91	5,87	0,161
Hepcidina (ng/mL)	58,88	26,14	44,46	14,14	0,003
IDM 12M	98,68	11,22	100,25	9,97	0,564
IDP 12M	89,83	13,72	85,55	8,77	0,082

DT: desviación típica; Fe Normal: ningún parámetro del hierro alterado; Déficit Fe: algún parámetro del hierro alterado (FS <12 µg/L o VCM<70 fl o ST<16 % o Hb <11 g/dL); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

A los 12 meses, la mayoría de diferencias observadas a los 6 meses en los parámetros bioquímicos disminuyen aunque en el hematocrito, la hemoglobina y la hepcidina siguen observándose diferencias significativas.

## 2.2 DESARROLLO DEL NIÑO SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO A LOS 12 MESES

En la tabla 20 se muestra el desarrollo del niño a los 12 meses según su estado de hierro a los 12 meses.

**Tabla 20. Desarrollo del niño a los 12 meses según el estado en hierro a los 12 meses**

	Fe NORMAL n = 124		DÉFICIT Fe n = 5		p
	Media	DT	Media	DT	
Peso (g)	10043,83	1129,35	9045,00	1032,04	0,084
Talla (cm)	75,69	2,67	75,88	4,39	0,895
Perímetro craneal (cm)	46,32	1,40	44,88	1,11	0,044
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,53	1,64	15,68	0,60	0,027
Hematocrito (%)	35,76	2,02	30,72	1,70	<0,001
Hemoglobina (g/dL)	12,05	0,70	10,28	0,59	<0,001
Hematíes (x10E12L)	4,54	0,31	4,24	0,44	0,039
VCM (fl)	79,01	3,87	73,08	7,94	0,170
HCM (pg)	26,64	1,47	24,50	3,01	0,188
CHCM (g/dL)	33,71	0,61	33,52	0,87	0,508
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,85	1,34	16,86	2,43	0,138
Hierro sérico (µmol/L)	11,84	4,87	8,12	2,31	0,092
Ferritina sérica (µg/L)	25,85	26,69	17,24	7,84	0,475
Transferrina sérica (g/L)	2,64	0,36	2,90	0,50	0,123
Saturación de Transferrina (%)	17,48	7,71	11,29	3,73	0,077
Hepcidina (ng/mL)	57,20	26,44	46,97	14,11	0,394
IDM 12M	99,20	11,34	94,25	7,89	0,390
IDP 12M	89,79	13,31	88,00	8,87	0,790

DT: desviación típica; Fe Normal: ningún parámetro del hierro alterado; Déficit Fe: algún parámetro del hierro alterado (FS <12 µg/L o VCM<70 fl o ST<16 % o Hb <11 g/dL); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

A los 12 meses no se observan diferencias significativas a nivel antropométrico ni cognitivo entre los niños con un buen estado de hierro y los niños con déficit.

### 3. ESTADO EN HIERRO A LOS 6 Y 12 MESES EN FUNCIÓN DE ALTERACIONES EN EL GEN HFE

En la tabla 21 se presenta la frecuencia de las principales mutaciones en el gen HFE de la Hemocromatosis Hereditaria en función del sexo. No se han observado diferencias significativas entre niños y niñas. No se han detectado sujetos homocigotos para C282Y ni para S65C, ni compuestos heterocigotos C282Y/S65C ni S65C/H63D.

**Tabla 21. Frecuencia de alteraciones en el gen HFE**

Polimorfismo			NIÑOS n = 61		NIÑAS n = 68		TOTAL n = 129	
C282Y	H63D	S65C	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%
-/-	-/-	-/-	60,7	52,3 - 69,1	60,3	51,9 - 68,7	60,5	52,1 - 68,9
+/-	-/-	-/-	4,9	1,2 - 8,6	4,4	0,9 - 7,9	4,7	1,2 - 8,6
-/-	+/-	-/-	29,5	21,6 - 37,4	30,9	22,9 - 38,9	30,2	21,6 - 37,4
-/-	+/+	-/-	1,6	-0,6 - 3,8	1,5	-0,6 - 3,6	1,6	-0,6 - 3,8
-/-	-/-	+/-	1,6	-0,6 - 3,8	1,5	-0,6 - 3,6	1,6	-0,6 - 3,8
+/-	+/-	-/-	1,6	-0,6 - 3,8	1,5	-0,6 - 3,6	1,6	-0,6 - 3,8
*Alteración en HFE			39,3	30,9 - 47,7	39,7	31,3 - 48,1	39,5	31,1 - 47,9

\* Presencia de alguna de las alteraciones estudiadas. (+) indica alelo mutado.

En la tabla 22 y 23 se muestran los parámetros bioquímicos del hierro en función de la presencia o no de mutaciones en el gen HFE.

No observamos diferencias significativas en los parámetros bioquímicos ni en el estado de hierro en función de la presencia o no de las alteraciones estudiadas en el gen HFE ni a los 6 ni a los 12 meses.

**Tabla 22. Estado en hierro a los 6 meses según presencia o no de mutaciones en el gen HFE**

	Salvaje <sup>(a)</sup>		Mutación <sup>(b)</sup>			TOTAL	
	n = 78		n = 51			n = 129	
	Media	DT	Media	DT	p <sup>(a-b)</sup>	Media	DT
Hematocrito (%)	34,52	2,86	34,16	2,37	0,514	34,45	2,73
Hemoglobina (g/dL)	11,64	0,97	11,63	0,84	0,979	11,65	0,93
Hematíes (x10E12L)	4,46	0,31	4,41	0,34	0,421	4,45	0,32
VCM (fl)	77,38	4,07	77,56	3,92	0,819	77,49	4,01
HCM (pg)	26,12	1,57	26,42	1,54	0,345	26,24	1,56
CHCM (g/dL)	33,74	0,87	34,06	0,85	0,078	33,85	0,87
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,27	1,60	13,61	1,12	0,027	14,02	1,48
Hierro sérico (µmol/L)	10,89	4,99	10,97	4,24	0,938	10,89	4,70
Ferritina sérica (µg/L)	33,83	24,08	35,43	22,64	0,938	34,47	23,38
Transferrina sérica (g/L)	2,70	0,40	2,44	0,36	0,740	2,61	0,40
Saturación de Transferrina (%)	15,89	7,64	17,06	7,63	0,450	16,28	7,59
Hepcidina (ng/mL)	47,14	20,16	44,63	20,54	0,522	46,62	21,11
FS <12 µg/L,%	13,5		4,5		0,119	10,2	
VCM <70 fl,%	2,7		2,3		0,877	2,6	
ST<16 %, %	50,7		37,8		0,172	45,8	
Hb <11 g/dL ,%	19,2		18,2		0,894	18,8	
Déficit de Hierro,%	6,9		2,3		0,26	5,2	
Anemia Ferropénica,%	18,1		13,6		0,533	16,4	

DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %).

**Tabla 23. Estado en hierro a los 12 meses según presencia o no de mutaciones en el gen HFE**

	Salvaje <sup>(a)</sup>		Mutación <sup>(b)</sup>		p <sup>(a-b)</sup>	TOTAL	
	n = 78		n = 51			n = 129	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Hematocrito (%)	35,89	3,28	35,66	2,24	0,702	35,77	2,90
Hemoglobina (g/dL)	12,06	1,10	12,08	0,81	0,952	12,06	0,99
Hematíes (x10E12L)	4,54	0,33	4,55	0,32	0,835	4,54	0,32
VCM (fl)	79,21	4,96	78,52	3,96	0,464	78,95	4,55
HCM (pg)	26,63	1,76	26,60	1,56	0,929	26,61	1,66
CHCM (g/dL)	38,46	38,05	33,86	0,53	0,452	36,62	29,52
Dispersión volumen eritrocitos (%)	15,18	1,45	14,78	1,42	0,134	14,01	1,47
Hierro sérico (µmol/L)	11,82	5,06	11,91	4,86	0,931	11,88	4,93
Ferritina sérica (µg/L)	23,57	11,91	30,69	43,15	0,225	26,16	28,05
Transferrina sérica (g/L)	2,74	0,31	2,62	0,34	0,093	2,69	0,32
Saturación de Transferrina (%)	16,41	7,07	17,99	7,86	0,303	17,08	7,34
Hepcidina (ng/mL)	59,72	29,04	52,71	21,42	0,175	57,06	29,33
FS <12 µg/L,%	16,4		15,2		0,864	15,9	
VCM <70 fl,%	2,9		0		0,236	1,7	
ST<16 %,%	55,2		39,1		0,093	48,7	
Hb <11 g/dL ,%	7,4		2,1		0,213	5,2	
Déficit de Hierro,%	12,1		6,5		0,26	9,8	
Anemia Ferropénica,%	4,5		2,2		0.455	3,6	

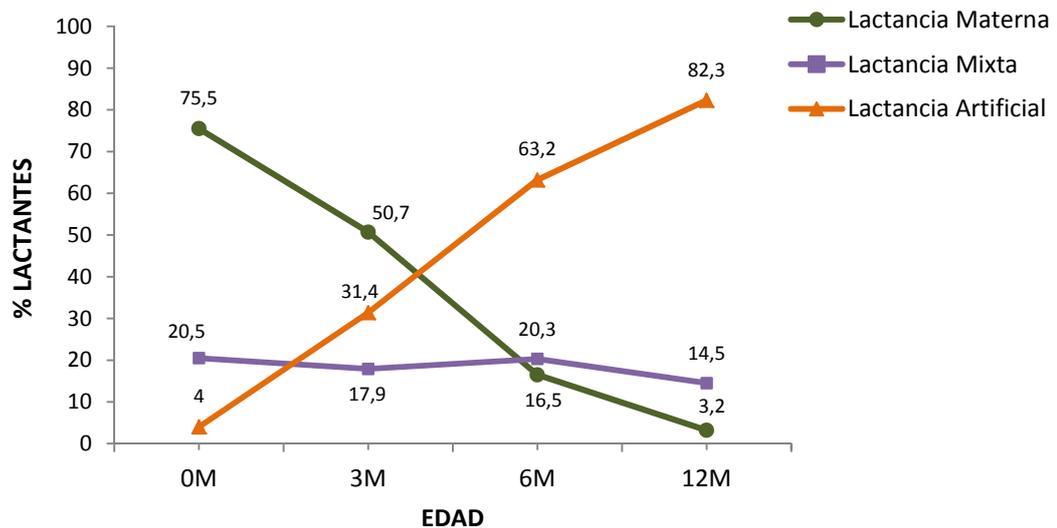
DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %).

#### 4. ESTUDIO LONGITUDINAL: TIPO DE LACTANCIA

##### 4.1 EVOLUCIÓN DEL TIPO DE LACTANCIA DURANTE EL PRIMER AÑO

La duración media de la lactancia materna en nuestra muestra es de 3.9 meses. En la figura 12 se muestra la evolución del tipo de lactancia durante el primer año de vida. Observamos que el 75.5% de los niños abandonan el hospital alimentándose con leche materna, a los 3 meses el porcentaje disminuye al 50,7% y a partir de aquí sufre un rápido descenso hasta el punto que a los 6 meses únicamente el 16,5% de los niños realizan lactancia materna. No se han detectado diferencias en el tipo de lactancia realizada entre sexos en ninguna franja de edad.

**Figura 12. Evolución de la lactancia durante el primer año de vida**



#### 4.2 INTRODUCCIÓN DE ALIMENTOS SEGÚN EL TIPO DE LACTANCIA

En las tabla 24 se muestra la introducción de alimentos en función del tipo de lactancia seguida (materna, mixta o artificial) hasta los 6 meses. Observamos que los niños alimentados con lactancia mixta o artificial introducen antes los cereales sin gluten, la fruta y la verdura que los niños alimentados con lactancia materna.

**Tabla 24. Meses de introducción de alimentos según el tipo de lactancia realizada hasta los 6 meses**

	LM <sup>(a)</sup>		LMixta <sup>(b)</sup>		LA <sup>(c)</sup>		p
	n=21		n=27		n=81		
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Lactancia artificial 1 (inicio)	6,67	1,53	4,00	1,58	1,11	1,43	0.015 <sup>(a-b)</sup> / <0.001 <sup>(a-c)(b-c)</sup>
Lactancia artificial 2 (continuación)	7,00	1,11	5,68	1,29	6,22	0,95	0.002 <sup>(a-b)</sup> / 0.042 <sup>(a-c)</sup>
Cereales sin gluten	5,76	0,70	4,54	0,76	4,53	0,85	<0.001 <sup>(a-b)</sup> <sup>(a-c)</sup>
Cereales con gluten	7,42	1,12	6,78	1,06	6,87	1,34	0,302
Fruta	5,60	0,82	4,54	0,65	4,47	0,80	<0.001 <sup>(a-b)</sup> <sup>(a-c)</sup>
Verdura	6,60	0,82	6,12	0,52	5,98	0,64	0.045 <sup>(a-b)</sup> / 0.001 <sup>(a-c)</sup>
Pollo o Pavo	6,75	0,79	6,42	0,88	6,16	0,79	0.018 <sup>(a-c)</sup>
Carne roja	7,76	1,261	7,48	1,039	7,25	1,288	0,75
Pescado blanco	8,90	1,410	8,50	1,140	8,60	1,317	0,585
Pescado azul	10,75	1,893	12,00	0,00	10,40	2,384	0,815
Yema de huevo	10,00	0,840	10,60	1,298	10,34	1,334	0,393
Clara de huevo	11,25	1,215	11,64	,924	11,04	1,301	0,757
Legumbres	9,95	1,508	10,13	1,457	9,94	1,668	0,946

LM: lactancia materna; LMixta: lactancia mixta; LA: lactancia artificial; DT: desviación típica.

### **4.3 ANTROPOMETRÍA, ESTADO EN HIERRO Y DESARROLLO COGNITIVO A LOS 6 Y 12 MESES EN FUNCIÓN DEL TIPO DE LACTANCIA**

En las tablas 25 y 26 se muestran los resultados antropométricos, del estado en hierro y las puntuaciones del índice de desarrollo mental y el psicomotor a los 6 y 12 meses en función del tipo de lactancia administrada durante el primer semestre de vida.

A nivel antropométrico no se observan diferencias significativas ni a los 6 ni a los 12 meses según tipo de lactancia.

A nivel bioquímico se observa que los niveles de hematocrito y hemoglobina van aumentando al pasar de lactancia materna a mixta y de mixta a artificial. Los niveles de VCM y HCM también son mayores en niños alimentados con lactancia artificial.

Al comparar los resultados entre los niños que toman leche materna y mixta con los que solo toman leche de fórmula se observa niveles más altos de ferritina sérica, mayor saturación de transferrina y mayor hepcidina en el grupo de lactancia artificial.

Al valorar el porcentaje de niños con el estado de hierro alterado por déficit, los niños alimentados con leche artificial presentan menor prevalencia de depósitos bajos de hierro, de déficit de hierro y anemia ferropénica a los 6 meses. Este efecto no se ve a los 12 meses, donde no se observa diferencias en el estado de hierro alterado en función del tipo de lactancia realizado durante los 6 primeros meses.

Respecto al desarrollo cognitivo a los 6 y a los 12 meses, no observamos diferencias significativas en función del tipo de lactancia seguida durante el primer semestre, aunque si se ve una tendencia a favor de los niños alimentados con lactancia materna/mixta.

**Tabla 25. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo a los 6 meses en función del tipo de lactancia**

	LM <sup>(a)</sup> n=21		LMixta <sup>(b)</sup> n=27		LA <sup>(c)</sup> n=81		p	p <sup>(a+b) vs. c</sup>
	Media	DT	Media	DT	Media	DT		
Peso (g)	7700,43	801,37	8034,11	881,07	7982,61	840,15	0,300	0,507
Talla (cm)	67,34	2,81	67,56	3,23	66,92	4,20	0,708	0,420
Perímetro craneal (cm)	43,50	1,25	43,53	1,23	44,13	4,07	0,576	0,293
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	16,94	0,88	17,63	1,90	18,09	4,19	0,356	0,209
Hematocrito (%)	33,36	2,10	33,44	2,93	35,15	2,64	0,031 <sup>(a-c)</sup> /0,016 <sup>(b-c)</sup>	<0,001
Hemoglobina (g/dL)	11,34	0,83	11,34	1,12	11,87	0,78	0,058 <sup>(a-c)</sup> /0,024 <sup>(b-c)</sup>	0,001
Hematíes (x10E12/L)	4,47	0,18	4,36	0,37	4,48	0,33	0,247	0,196
VCM (fl)	74,74	4,93	76,77	4,96	78,49	3,26	0,001 <sup>(a-c)</sup>	0,003
HCM (pg)	25,41	1,87	26,07	2,11	26,64	1,23	0,009 <sup>(a-c)</sup>	0,012
CHCM (g/dL)	33,99	1,13	33,92	1,17	33,94	0,77	0,970	0,966
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,39	1,82	14,07	1,76	14,00	1,41	0,610	0,476
Hierro sérico (µmol/L)	9,70	3,96	10,73	4,32	11,73	4,90	0,196	0,110
Ferritina sérica (µg/L)	37,87	41,91	31,62	20,57	38,51	25,11	0,491	0,384
Transferrina sérica (g/L)	2,66	0,41	2,60	0,47	2,54	0,39	0,368	0,161
Saturación de Transferrina (%)	14,88	6,95	15,87	7,32	18,24	8,10	0,140	0,052
FS <12 µg/L,%	20,0		12,0		4,9		0,109	0,048
VCM <70 fl,%	15,8		3,		0		0,006	0,016
ST<16 %,%	55,0		50,0		40,0		0,393	0,185
Hb <11 g/dL ,%	31,6		37,0		8,8		0,002	<0,001
Déficit de Hierro,%	15,0		4,0		0		0,007	0,016
Anemia Ferropénica,%	31,6		30,8		6,3		0,001	<0,001
IDM	93,61	10,05	90,48	15,42	94,75	10,26	0,225	0,153
IDP	87,39	16,27	85,66	14,72	84,28	14,02	0,642	0,401

LM: lactancia materna; LMixta: lactancia mixta; LA: lactancia artificial; DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dl y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

**Tabla 26. Antropometría, estado bioquímico del hierro y desarrollo cognitivo a los 12 meses en función del tipo de lactancia seguida hasta los 6 meses**

	LM <sup>(a)</sup> n=21		LMixta <sup>(b)</sup> n=27		LA <sup>(c)</sup> n=81		p	p <sup>(a+b) vs. c</sup>
	Media	DT	Media	DT	Media	DT		
Peso (g)	9788,10	974,29	10533,85	1340,09	10043,00	1098,10	0,064	0,458
Talla (cm)	76,32	3,46	76,76	2,67	75,71	2,66	0,238	0,106
Perímetro craneal (cm)	46,39	1,10	46,48	1,41	46,27	1,46	0,775	0,501
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	16,82	1,44	17,95	2,01	17,53	1,43	0,051	0,736
Hematocrito (%)	35,23	5,07	35,46	2,18	35,99	2,11	0,480	0,236
Hemoglobina (g/dL)	11,89	1,74	11,94	0,75	12,12	0,72	0,539	0,272
Hematíes (x10E12L)	4,50	0,28	4,50	0,35	5,54	0,32	0,801	0,505
VCM (fl)	78,13	8,23	79,00	3,83	79,43	3,98	0,570	0,372
HCM (pg)	26,42	2,89	26,61	1,56	26,77	1,48	0,732	0,479
CHCM (g/dL)	33,81	0,79	33,70	0,56	33,70	0,56	0,777	0,685
Dispersión volumen eritrocitos (%)	15,65	2,10	14,53	1,44	14,88	1,28	0,045	0,608
Hierro sérico (µmol/L)	12,79	6,36	10,98	4,00	11,76	4,74	0,495	0,965
Ferritina sérica (µg/L)	21,30	12,30	19,37	7,88	29,23	32,65	0,224	0,086
Transferrina sérica (g/L)	2,66	0,41	2,70	0,31	2,62	0,37	0,690	0,447
Saturación de Transferrina (%)	19,01	9,69	15,94	5,85	17,37	7,79	0,449	0,983
FS <12 µg/L,%	21,1		21,7		13,9		0,588	0,297
VCM <70 fl,%	10,0		0,0		1,4		0,118	0,309
ST<16 %,%	36,8		65,2		45,8		0,149	0,500
Hb <11 g/dL ,%	15,0		4,3		4,1		0,257	0,229
Déficit de Hierro,%	15,8		8,7		8,3		0,645	0,570
Anemia Ferropénica,%	10,5		4,3		1,4		0,212	0,141
IDM	102,59	9,24	100,21	10,82	97,57	11,94	0,157	0,075
IDP	94,36	12,18	89,89	12,49	87,71	13,04	0,101	0,078

LM: lactancia materna; LMixta: lactancia mixta; LA: lactancia artificial; DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

En la tabla 27 se muestra la antropometría, el estado en hierro y el desarrollo cognitivo en función del tipo de lactancia seguida hasta los 12 meses. Se observa que los niños alimentados con leche artificial siguen con valores de hematocrito, hemoglobina y VCM superiores que los niños alimentados con leche materna o lactancia mixta, aunque no observamos diferencias en el porcentaje de los estadios deficitarios de hierro.

A nivel de desarrollo cognitivo a los 12 meses, se observa una mayor puntuación en el índice de desarrollo mental de forma significativa en los niños que reciben lactancia materna o lactancia mixta respecto a aquellos que realizan lactancia artificial.

**Tabla 27. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo a los 12 meses en función del tipo de lactancia seguida hasta los 12 meses**

	LM+ Mixta n=38		LA n=91		p
	Media	DT	Media	DT	
Peso (g)	9925,24	1259,45	10096,79	1216,00	0,558
Talla (cm)	76,07	3,48	75,80	2,91	0,717
Perímetro craneal (cm)	46,43	1,18	46,25	1,47	0,558
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,19	1,67	17,58	1,64	0,350
Hematocrito (%)	34,45	1,93	35,77	2,19	0,013
Hemoglobina (g/dL)	11,63	0,74	12,05	0,76	0,028
Hematíes (x10E12L)	4,49	0,24	4,52	0,32	0,668
VCM (fl)	76,87	5,34	79,23	3,91	0,023
HCM (pg)	25,97	2,04	26,69	1,49	0,068
CHCM (g/dL)	33,76	0,58	36,77	30,42	0,590
Dispersión volumen eritrocitos	15,64	2,01	14,85	1,31	0,109
Hierro sérico (µmol/L)	11,61	5,79	11,49	4,63	0,919
Ferritina sérica (µg/L)	20,88	12,08	26,79	28,91	0,361
Transferrina sérica (g/L)	2,64	0,37	2,65	0,37	0,927
Saturación de Transferrina (%)	17,41	9,09	16,94	7,46	0,801
FS <12 µg/L,%	19,0		15,8		0,465
VCM <70 fl,%	10,0		1,0		0,075
ST<16 %,%	52,4		49,5		0,809
Hb <11 g/dL ,%	10,0		5,2		0,342
Déficit de Hierro,%	20,0		7,4		0,098
Anemia Ferropénica,%	10,0		3,2		0,208
IDM 12M	103,84	9,08	97,36	11,45	0,009
IDP 12M	90,6	11,56	88,59	13,11	0,485

LM: lactancia materna; LMixta: lactancia mixta; LA: lactancia artificial; DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

Para valorar el efecto del tipo de lactancia sobre el desarrollo del lactante a los 6 meses se han realizado diferentes modelos de regresión lineal múltiple (RLM) sobre los principales parámetros del desarrollo antropométrico (IMC), del estado en hierro (clásicos: hemoglobina y ferritina, emergente: hepcidina), así como del desarrollo cognitivo (IDM y IDP) a los 6 meses. Todos los modelos han sido ajustados por variables confusoras.

No hemos observado efecto estadísticamente significativo del tipo de lactancia sobre el IMC ( $R^2_{*100}=5,5$ ;  $F_{10,19}=0,571$ ;  $p=0,591$ ), la ferritina sérica ( $R^2_{*100}=20,9$ ;  $F_{10,20}=0,489$ ;  $p=0,882$ ), la hepcidina ( $R^2_{*100}=50,1$ ;  $F_{10,12}=0,978$ ;  $p=0,978$ ) y el desarrollo cognitivo, IDM ( $R^2_{*100}=25,4$ ;  $F_{10,20}=0,393$ ;  $p=0,935$ ) y IDP ( $R^2_{*100}=21,9$ ;  $F_{10,20}=0,562$ ;  $p=0,825$ ).

En la tabla 28 se muestra el efecto del tipo de lactancia seguida durante los 6 primeros meses de vida sobre los niveles de hemoglobina.

**Tabla 28. Efecto del tipo de lactancia sobre los niveles de hemoglobina a los 6 meses**

Variables independientes y de ajuste	B	ET	p	Modelo De RLM
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: mixta)</b>	-0,739	0,292	0,016	
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: artificial)</b>	0,180	0,252	0,481	
Estado en hierro 6M (0: normal, 1: alterado)	-0,678	0,141	<0,001	
Sexo (0: niño, 1: niña)	0,742	0,214	0,001	
Edad gestacional (semanas)	-0,084	0,086	0,334	$R^2_{*100} = 51,5$ $F_{6,32} = 5,679$ $p < 0,001$
Peso al nacer (g)	0,000	0,000	0,337	
Talla al nacer (cm)	0,167	0,062	0,011	
Perímetro craneal al nacer (cm)	0,117	0,069	0,098	
Ferritina sérica al nacer ( $\mu\text{g/L}$ )	0,001	0,001	0,290	
Alteración genética (0: no tiene, 1: tiene)	0,436	0,185	0,024	

Estado en hierro alterado = déficit de hierro y/o anemia ferropénica; 6M: 6 meses de edad; RLM: regresión lineal múltiple.

## 5. ENSAYO CLÍNICO ALEATORIO: LECHE INFANTIL FORTIFICADA CON DOSIS ALTAS O BAJAS DE HIERRO

### 5.1 INTRODUCCIÓN DE ALIMENTOS SEGÚN EL TIPO DE LECHE FORTIFICADA EN HIERRO

En la tabla 29 se muestran los meses de introducción de alimentos en función del tipo de tipo de leche fortificada en hierro, alta o baja.

Se observa que los niños alimentados con la leche con dosis alta de hierro introducen antes la fruta y después el pescado azul, que los niños alimentados con la leche con dosis bajas de hierro.

**Tabla 29. Meses de introducción de alimentos según el tipo de leche fortificada en hierro**

	Leche ↑ Fe n = 103		Leche ↓ Fe n = 26		p
	Media	DT	Media	DT	
Lactancia artificial 1 (inicio)	1,62	2,033	2,75	2,720	0,061
Lactancia artificial 2 (continuación)	6,29	1,134	6,53	1,187	0,453
Cereales sin gluten	4,77	,925	4,95	1,433	0,488
Cereales con gluten	6,94	1,296	7,61	1,335	0,05
Fruta	4,53	,855	5,23	1,378	0,003
Verdura	6,10	,672	6,50	1,102	0,119
Pollo o Pavo	6,26	,743	6,81	1,289	0,072
Carne roja	7,37	1,244	7,40	1,273	0,932
Pescado blanco	8,70	1,317	8,57	1,308	0,663
Pescado azul	10,14	2,316	12,25	,500	0,006
Yema de huevo	10,38	1,209	10,21	1,477	0,640
Clara de huevo	11,20	1,171	11,50	1,243	0,431
Legumbres	9,91	1,585	10,53	1,506	0,164

Leche ↑ Fe: 1,16 mg de hierro/100ml; Leche ↓ Fe: 0,44 mg de hierro/100ml. DT: desviación típica.

Entre los dos grupos de intervención no hay diferencias significativas en el porcentaje de niños que han recibido lactancia materna, mixta o artificial hasta los 6 meses. Por lo que tanto en el grupo de leche alta en hierro como en el de leche baja en hierro hay de forma equitativa niños que han tomado leche materna, lactancia mixta y lactancia artificial (Tabla 30).

**Tabla 30. Porcentaje de niños que han realizado lactancia materna, mixta o artificial durante los 6 primeros meses**

	<b>Leche ↑ Fe n= 103</b>	<b>Leche ↓ Fe n= 26</b>	
<b>Tipo de lactancia</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>p</b>
Lactancia materna	15	15,4	
Lactancia mixta	19	26,9	0,653
Lactancia artificial	66	57,7	

Leche ↑ Fe: 1,16 mg de hierro/100ml; Leche ↓ Fe: 0,44 mg de hierro/100ml.

## 5.2 ANTROPOMETRÍA, ESTADO EN HIERRO Y DESARROLLO COGNITIVO AL INICIO Y FINAL DE LA INTERVENCIÓN SEGÚN EL TIPO DE LECHE FORTIFICADA EN HIERRO

En la tabla 31 se muestran los parámetros antropométricos, el estado en hierro y el desarrollo cognitivo de los sujetos antes de iniciar el ensayo clínico (a los 6 meses).

**Tabla 31. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo al inicio de la intervención según el tipo de leche fortificada en hierro**

	Leche ↑ Fe n = 103		Leche ↓ Fe n = 26		p
	Media	DT	Media	DT	
Peso (g)	8061,42	951,46	7464,00	702,84	<0,001
Talla (cm)	67,26	4,13	66,14	2,42	0,337
Perímetro craneal (cm)	44,12	3,78	43,02	0,96	0,131
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	18,05	3,92	17,02	1,45	0,123
Hematocrito (%)	34,34	2,54	34,21	2,81	0,970
Hemoglobina (g/dL)	11,63	0,88	11,55	0,99	0,637
Hematíes (x10E12L)	4,43	0,32	4,04	0,34	0,662
VCM (fl)	77,57	4,05	77,81	4,77	0,609
HCM (pg)	26,29	1,58	26,28	1,88	0,916
CHCM (g/dL)	33,88	0,88	33,75	0,72	0,189
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,06	1,38	14,09	2,06	0,970
Hierro sérico (µmol/L)	10,93	4,51	11,54	4,60	0,871
Ferritina sérica (µg/L)	32,73	22,60	42,86	30,28	0,151
Transferrina sérica (g/L)	2,59	0,42	2,35	0,43	0,056
Saturación de Transferrina (%)	16,34	7,35	19,93	9,46	0,188
FS <12 µg/L,%	10,4		3,7		0,453
VCM <70 fl,%	3,1		3,7		1
ST<16 %,%	46,4		42,3		0,710
Hb <11 g/dL ,%	18,8		22,2		0,688
Déficit de Hierro,%	4,2		2,8		1
Anemia Ferropénica,%	15,8		23,1		0,390
IDM	91,94	16,57	92,91	91,94	0,692
IDP	84,36	16,49	81,52	84,36	0,405
Alteración gen HFE, %	37,4		28,0		0,634

Leche ↑ Fe: 1,16 mg de hierro/100ml; Leche ↓ Fe: 0,44 mg de hierro/100ml; DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

Al inicio de la intervención no se observan diferencias en talla y perímetro craneal, estado en hierro ni en los índices de desarrollo cognitivo. El porcentaje de alteraciones en HFE fue similar en los dos grupos.

En la tabla 32 se muestran los parámetros antropométricos, el estado en hierro y el desarrollo cognitivo después del ensayo clínico.

**Tabla 32. Antropometría, estado en hierro y desarrollo cognitivo al final de la intervención según el tipo de leche fortificada en hierro**

	Leche ↑ Fe n= 103		Leche ↓ Fe n= 26		p
	Media	DT	Media	DT	
Peso (g)	10164,76	1211,75	9709,23	1166,58	0,087
Talla (cm)	76,18	2,95	74,56	2,85	0,015
Perímetro craneal (cm)	46,41	1,42	45,83	1,45	0,065
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,52	1,60	17,48	1,79	0,898
Hematocrito (%)	35,70	2,06	35,95	4,71	0,794
Hemoglobina (g/dL)	12,03	0,72	12,08	1,61	0,892
Hematíes (x10E12L)	4,52	0,31	4,55	0,35	0,727
VCM (fl)	79,07	3,94	79,02	7,45	0,968
HCM (pg)	26,65	1,49	26,56	2,62	0,811
CHCM (g/dL)	36,97	31,23	33,60	0,58	0,585
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,92	1,43	15,40	1,69	0,150
Hierro sérico (µmol/L)	11,45	4,60	11,63	4,87	0,867
Ferritina sérica (µg/L)	26,41	29,22	22,29	13,73	0,495
Transferrina sérica (g/L)	2,66	0,34	2,60	0,48	0,450
Saturación de Transferrina (%)	16,92	6,75	17,04	9,22	0,942
FS < 12 µg/L, %	13,2%		32,0%		0,033
VCM < 70 fl, %	1,1%		7,7%		0,122
ST<16 %, %	45,1%		64,0%		0,093
Hb < 11 g/dL, %	4,3%		11,5%		0,179
Déficit de Hierro, %	6,6%		20,8%		0,040
Anemia Ferropénica, %	2,2%		12,5%		0,049
IDM	99,19	11,90	92,04	20,77	0,025
IDP	89,51	13,20	83,76	21,12	0,091

Leche ↑ Fe: 1,16 mg de hierro/100ml; Leche ↓ Fe: 0,44 mg de hierro/100ml; DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 µg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

Al comparar los niños que han tomado leche alta en hierro versus los que han tomado leche baja en hierro se observa que los niños con leche alta en hierro son significativamente más altos. En cuanto al estado en hierro los niños que han tomado leche alta en hierro, tienen menor porcentaje de ferritina sérica baja y menos prevalencia de déficit y anemia ferropénica.

A nivel cognitivo se observa que los niños alimentados con leche alta en hierro obtienen mayor puntuación en el índice de desarrollo mental a los 12 meses respecto a los niños alimentados con leche fortificada a dosis bajas.

En la tabla 33 se muestra la evolución de los parámetros antropométricos, el estado en hierro y del desarrollo cognitivo durante la intervención.

Mientras que en el grupo de niños con la leche fortificada en las dosis altas de hierro disminuye el porcentaje de anemia de los 6 a los 12 meses, en el grupo con la leche fortificada a dosis bajas, aumenta el porcentaje de depósitos bajos en el mismo período de tiempo.

Los niños alimentados con la leche fortificada en las dosis altas de hierro aumentan de forma significativa sus índices de desarrollo mental y psicomotor de los 6 a los 12 meses, mientras que los niños alimentados con leche fortificada a dosis bajas, sus niveles de desarrollo cognitivo se mantienen sin cambios en el tiempo.

**Tabla 33. Evolución de los parámetros antropométricos, bioquímicos del hierro y del desarrollo cognitivo durante la intervención**

	INTERVENCIÓN: Leche ↓ Fe						INTERVENCIÓN: Leche ↑ Fe						VARIACIÓN de 6 a 12 MESES Δ 12 - 6 meses <sup>B</sup>		
	6 MESES		12 MESES		p	VARIACIÓN de 6 a 12 MESES Δ 12 - 6 meses <sup>A</sup>		6 MESES		12 MESES		p			
	n = 26		n = 26			Media	DT	Media	DT	n = 103			n = 103		
	Media	DT	Media	DT	p	Media	DT	Media	Media	DT	p	Media	DT	p <sup>A-B</sup>	
Peso (g)	7464,00	702,84	9709,23	1166,58	<0,001	2245,23	767,22	8061,42	951,46	10164,76	1211,75	<0,001	2103,34	559,38	0,77
Talla (cm)	66,14	2,42	74,56	2,85	<0,001	8,42	1,56	67,26	4,13	76,18	2,95	<0,001	8,92	4,07	0,435
Perímetro craneal (cm)	43,02	0,96	45,83	1,45	<0,001	2,81	0,59	44,12	3,78	46,41	1,42	<0,001	2,29	3,56	0,547
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	17,02	1,45	17,48	1,79	0,154	0,46	0,26	18,05	3,92	17,52	1,60	0,175	-0,53	3,64	0,249
Hematocrito (%)	34,21	2,81	35,95	4,71	0,084	1,74	4,93	34,34	2,54	35,70	2,06	<0,001	1,36	2,28	0,669
Hemoglobina (g/dL)	11,55	0,99	12,08	1,61	0,098	0,53	1,57	11,63	0,88	12,03	0,72	<0,001	0,40	0,83	0,54
Hematíes (x10E12L)	4,04	0,34	4,55	0,35	0,037	0,51	0,31	4,43	0,32	4,52	0,31	0,001	0,09	0,25	0,446
VCM (fl)	77,81	4,77	79,02	7,45	0,326	1,21	6,99	77,57	4,05	79,07	3,94	<0,001	1,50	3,18	0,941
HCM (pg)	26,28	1,88	26,56	2,62	0,452	0,28	2,24	26,29	1,58	26,65	1,49	0,028	0,36	1,34	0,93
CHCM (g/dL)	33,75	0,72	33,60	0,58	0,395	-0,15	0,84	33,88	0,88	36,97	31,23	0,347	3,09	31,79	0,609
Dispersión volumen eritrocitos (%)	14,09	2,06	15,40	1,69	0,002	1,31	1,76	14,06	1,38	14,92	1,43	<0,001	0,86	1,77	0,386
Hierro sérico (μmol/L)	11,54	4,60	11,63	4,87	0,74	0,09	6,39	10,93	4,51	11,45	4,60	0,486	0,52	5,59	0,992
Ferritina sérica (μg/L)	42,86	30,28	22,29	13,73	0,001	-20,57	25,86	32,73	22,60	26,41	29,22	0,102	-6,32	35,11	0,081
Transferrina sérica (g/L)	2,35	0,43	2,60	0,48	<0,001	0,25	0,25	2,59	0,42	2,66	0,34	0,036	0,07	0,33	0,031
Saturación de Transferrina (%)	19,93	9,46	17,04	9,22	0,118	-2,89	6,95	16,34	7,35	16,92	6,75	0,647	0,58	8,41	0,149
Hepcidina (ng/mL)	45,28	16,23	52,37	24,69	0,102	7,09	18,82	47,92	21,24	57,85	26,55	<0,001	9,93	23,53	0,367
FS < 12 (μg/L),%	3,7		32,0		0,028			10,4		13,2		0,828			
VCM < 70 (fl),%	3,7		7,7		1			3,1		1,1		0,614			
ST<16 (%),%	42,3		64,0		0,164			46,4		45,1		0,889			
Hb < 11 (g/dL),%	22,2		11,5		0,464			18,8		4,3		0,002			
Déficit de Hierro, %	2,8		20,8		0,192			4,2		6,6		0,535			
IDM	95,67	12,79	92,04	20,77	0,439	-3,63	15,06	93,21	13,62	99,19	11,90	<0,001	5,99	17,49	0,259
IDP	82,11	10,17	83,76	21,12	0,070	1,75	12,80	85,69	14,15	89,51	13,20	0,007	3,82	16,25	0,915

Leche ↑ Fe: 1,16 mg de hierro/100ml; Leche ↓ Fe: 0,44 mg de hierro/100ml; Δ 12 - 6 meses: valores (12 meses - 6 meses); DT: desviación típica; Déficit de Hierro definido como dos de los siguientes parámetros alterados (FS <12 μg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); Anemia Ferropénica definida como Hb < 11 g/dL y uno o más un parámetros alterados (FS <12 μg/L, VCM<70 fl, ST<16 %); IDM: Índice de desarrollo mental; IDP: Índice de desarrollo psicomotor.

### 5.3 EFECTO DEL TIPO DE LACTANCIA Y DEL TIPO DE LECHE FORTIFICADA EN HIERRO SOBRE EL DESARROLLO DEL LACTANTE AL FINAL DE LA INTERVENCIÓN

En las siguientes tablas (34-39), se estudia de forma conjunta el efecto del tipo de lactancia seguida durante los 6 primeros meses, así como el tipo de leche fortificada en hierro durante el segundo semestre, sobre los principales parámetros del desarrollo del lactante a los 12 meses, antropométricos (IMC), del estado en hierro (clásicos: hemoglobina y ferritina, emergente: hepcidina), así como del desarrollo cognitivo (IDM y IDP). Todos los modelos han sido ajustados por variables de ajuste.

**Tabla 34. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre el IMC al final de la intervención**

Variables independientes y de ajuste	B	ET	p	Modelo de RLM
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: mixta)</b>	1,168	0,641	0,080	
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: artificial)</b>	0,390	0,570	0,500	
<b>Tipo de leche (0: alta en Fe, 1: baja)</b>	1,028	0,451	0,031	
Estado en hierro 6M (0: normal, 1: alterado)	0,487	0,324	0,145	
Sexo (0: niño, 1: niña)	-0,220	0,501	0,664	
Edad gestacional (semanas)	0,184	0,171	0,293	
Peso al nacer (g)	0,000	0,001	0,526	$R^2_{*100} = 63,9$
Talla al nacer (cm)	-0,129	0,136	0,351	$F_{13,27} = 6,447$
Perímetro craneal al nacer (cm)	-0,105	0,141	0,461	$p < 0,001$
Ferritina sérica al nacer ( $\mu\text{g/L}$ )	0,000	0,002	0,897	
Peso 6M (g)	0,003	0,000	<0,001	
Talla 6M (cm)	-0,665	0,130	<0,001	
Perímetro craneal 6M (cm)	0,297	0,199	0,147	

6M: 6 meses de edad; 12M: 12 meses de edad; RLM: regresión lineal múltiple.

El IMC a los 12 meses aumenta a medida que aumenta el peso, disminuye la talla y con la ingesta de leche fortificada con la dosis baja en hierro (vs la leche con dosis alta de hierro) (Tabla 34).

**Tabla 35. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre la hemoglobina al final de la intervención**

<b>Variables independientes y de ajuste</b>	<b>B</b>	<b>ET</b>	<b>p</b>	<b>Modelo de RLM</b>
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: mixta)</b>	-2,145	0,610	0,001	
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: artificial)</b>	-1,320	0,547	0,022	
<b>Tipo de leche (0: alta en Fe, 1: baja)</b>	1,297	0,408	0,004	
Estado en hierro 6M (0: normal, 1: alterado)	-0,262	0,301	0,391	$R^2_{*100} = 31,1$ $F_{13,27} = 2,904$ $p = 0,014$
Sexo (0: niño, 1: niña)	-0,700	0,363	0,064	
Edad gestacional (semanas)	0,210	0,137	0,135	
Ferritina sérica al nacer ( $\mu\text{g/L}$ )	0,001	0,002	0,650	
IMC 6M ( $\text{kg/m}^2$ )	0,241	0,171	0,170	
Alteración genética (0: no tiene, 1: tiene)	0,223	0,385	0,566	

Estado en hierro alterado = déficit de hierro y/o anemia ferropénica; 6M: 6 meses de edad; 12M: 12 meses de edad; RLM: regresión lineal múltiple.

A los 12 meses la hemoglobina aumenta con la lactancia materna (vs mixta y artificial) y la ingesta de la leche fortificada con dosis alta en hierro (vs la leche fortificada con la dosis baja de hierro) (Tabla 35).

**Tabla 36. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre la ferritina sérica al final de la intervención**

<b>Variables independientes y de ajuste</b>	<b>B</b>	<b>ET</b>	<b>p</b>	<b>Modelo de RLM</b>
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: mixta)</b>	4,437	4,748	0,354	
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: artificial)</b>	10,730	4,346	0,016	
<b>Tipo de leche (0: alta en Fe, 1: baja)</b>	2,250	3,117	0,473	
Estado en hierro 6M (0: normal, 1: alterado)	2,048	1,798	0,259	$R^2_{*100} = 14,9$ $F_{8,62} = 2,529$ $p = 0,019$
Sexo (0: niño, 1: niña)	-7,467	2,704	0,008	
Edad gestacional (semanas)	1,282	0,940	0,177	
IMC 6M ( $\text{kg/m}^2$ )	-0,156	0,889	0,861	
Alteración genética (0: no tiene, 1: tiene)	-1,616	2,618	0,539	

Estado en hierro alterado = déficit de hierro y/o anemia ferropénica; 6M: 6 meses de edad; 12M: 12 meses de edad; RLM: regresión lineal múltiple.

La ferritina a los 12 meses aumenta con la lactancia artificial (vs materna) y es mayor en los niños (Tabla 36).

**Tabla 37. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre la hepcidina al final de la intervención**

VARIABLES INDEPENDIENTES Y DE AJUSTE	B	ET	P	Modelo de RLM
Lactancia 6M (0: materna, 1: mixta)	3,773	15,503	0,810	
Lactancia 6M (0: materna, 1: artificial)	2,908	13,630	0,833	
Tipo de leche (0: alta en Fe, 1: baja)	-22,854	11,971	0,067	
Sexo (0: niño, 1: niña)	-2,110	8,949	0,815	$R^2_{*100} = 14,9$ $F_{8,62} = 2,529$ $p = 0,019$
Ferritina sérica al nacer ( $\mu\text{g/L}$ )	0,063	0,037	0,103	
Ferritina 6M ( $\mu\text{g/L}$ )	0,653	0,223	0,007	
IMC 6M ( $\text{kg/m}^2$ )	-6,237	4,332	0,161	
Alteración genética (0: no tiene, 1: tiene)	-18,240	8,803	0,048	

6M: 6 meses de edad; 12M: 12 meses de edad; RLM: regresión lineal múltiple.

El aumento de los niveles de hepcidina se asocia positivamente con el aumento de los niveles de ferritina sérica y negativamente con la presencia de alteraciones en el gen HFE. Además, se observó una tendencia a la disminución de la hepcidina con la ingesta de leche baja en hierro (Tabla 37).

**Tabla 38. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre el índice de desarrollo mental al final de la intervención**

VARIABLES INDEPENDIENTES Y DE AJUSTE	B	ET	P	Modelo de RLM
Lactancia 6M (0: materna, 1: mixta)	-11,336	5,239	0,039	
Lactancia 6M (0: materna, 1: artificial)	-14,984	5,120	0,007	
Tipo de leche (0: alta en Fe, 1: baja)	-8,733	4,079	0,041	
Sexo (0: niño, 1: niña)	-0,743	3,998	0,854	$R^2_{*100} = 29,0$ $F_{8,62} = 2,450$ $p = 0,027$
Edad gestacional (semanas)	-0,431	1,425	0,765	
Peso al nacer (g)	-0,007	0,006	0,295	
Talla al nacer (cm)	3,207	1,166	0,010	
Perímetro craneal al nacer (cm)	-2,177	1,140	0,066	
Ferritina sérica al nacer ( $\mu\text{g/L}$ )	-0,034	0,018	0,064	
Ferritina 6M ( $\mu\text{g/L}$ )	0,157	0,096	0,113	
Hemoglobina 6M (g/dL)	-0,895	1,963	0,652	

6M: 6 meses de edad; 12M: 12 meses de edad; RLM: regresión lineal múltiple.

La puntuación del IDM a los 12 meses aumenta con la lactancia materna exclusiva durante los 6 primeros meses (vs mixta y artificial) así como con la ingesta de la leche fortificada con dosis alta en hierro (vs la leche fortificada con la dosis baja de hierro) a partir de los 6 meses. Además, dicha puntuación también aumenta cuanto mayor es la talla al nacer (Tabla 38).

**Tabla 39. Efecto del tipo de lactancia y tipo de leche alta o baja en hierro sobre el índice de desarrollo psicomotor al final de la intervención**

<b>Variabes independientes y de ajuste</b>	<b>B</b>	<b>ET</b>	<b>p</b>	<b>Modelo de RLM</b>
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: mixta)</b>	-19,985	10,452	0,075	
<b>Lactancia 6M (0: materna, 1: artificial)</b>	-28,270	9,676	0,011	
<b>Tipo de leche (0: alta en Fe, 1: baja)</b>	-9,333	5,857	0,132	
Sexo (0: niño, 1: niña)	-5,468	4,190	0,212	R <sup>2</sup> *100 = 39,9 F <sub>8,62</sub> = 2,768 p = 0,039
Ferritina sérica al nacer (µg/L)	-0,087	0,031	0,012	
IMC 0M (kg/m <sup>2</sup> )	-2,940	1,839	0,131	
Ferritina 6M (µg/L)	0,416	0,136	0,008	
Peso 6M (g)	0,008	0,004	0,048	
Alteración genética (0: no tiene, 1: tiene)	10,800	5,711	0,078	

6M: 6 meses de edad; 12M: 12 meses de edad; RLM: regresión lineal múltiple.

Respecto a la puntuación del IDP a los 12 meses, dicho desarrollo psicomotor aumenta con la lactancia materna exclusiva durante los 6 primeros meses (vs artificial) y con el aumento de peso y niveles de ferritina sérica a los 6 meses (Tabla 39).

A los 12 meses, los parámetros del desarrollo estudiados que se ven afectados por el tipo de lactancia y el tipo de leche fortificada en hierro son el IMC, la hemoglobina, la ferritina sérica, la hepcidina y los índices de desarrollo cognitivo.

## DISCUSIÓN



## DISCUSIÓN

El presente estudio ha observado el efecto favorable de la lactancia materna sobre el desarrollo del niño hasta el año de edad y el efecto beneficioso, en niños caucásicos de un país desarrollado, de la fortificación alta en hierro en las leches infantiles frente a la dosis baja.

La mayoría de estudios donde se ha valorado el déficit de hierro ha sido principalmente en niños malnutridos y/o de países en vías de desarrollo ya que es donde la prevalencia de déficit de hierro es más elevada. En África y el sur-este asiático la prevalencia de anemia es de 2 de cada 3 niños menores de 5 años. En países desarrollados dicha prevalencia es menor debido a la mayor disponibilidad de alimentos ricos en hierro y gracias a la fortificación de otros alimentos como las leches infantiles o los cereales (WHO, 2008).

En relación a las características generales de la muestra estudiada, la mayoría de los niños provienen de familias con un nivel sociocultural medio y forman parte de una muestra homogénea, ya que, los niños que nacieron prematuros, con bajo peso, o con alguna patología que pudiera interferir en el desarrollo del niño fueron excluidos del estudio.

Como uno de los objetivos del estudio fue describir las mutaciones en el gen HFE, se excluyeron familias que no fueran de raza caucásica. Eso nos permite presentar los resultados de población general de raza caucásica de nuestra área geográfica.

La participación por parte de las familias ha sido buena, en parte por la motivación de recibir un seguimiento realizado por un equipo multidisciplinar del propio hospital y también por recibir de forma gratuita la leche de continuación. El principal motivo de la no participación fue la extracción sanguínea incluida en el diseño del estudio.

El seguimiento de los niños se llevó a cabo en el mismo hospital por un equipo multidisciplinar formado por pediatras, psicólogos y nutricionistas. El método para realizar las medidas antropométricas, así como las entrevistas y los diferentes

cuestionarios ha sido estandarizado entre los diferentes profesionales del estudio con la finalidad de disminuir la variabilidad entre ellos.

Se han realizado dos diseños, un estudio longitudinal para valorar el tipo de lactancia seguida durante el primer año de vida y un ensayo clínico para valorar el desarrollo del niño en función de la ingesta de leche fortificada con dosis alta o baja de hierro. El hecho de realizar el ensayo clínico aleatorizado a triple ciego ha permitido que ni los participantes ni los investigadores estuvieran influenciados por el efecto de saber si tomaban leche fortificada en dosis alta o baja de hierro, con lo que tampoco ha influido el sesgo del investigador.

El procedimiento de obtención, extracción y conservación de las muestras de sangre para determinar las variables bioquímicas y genéticas, siguió el protocolo establecido y aceptado por estamentos internacionales.

Se ha utilizado una amplia batería de parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo del hierro para determinar el estado de hierro. Para los parámetros bioquímicos que valoran el déficit de hierro se utilizaron los límites de normalidad aceptados internacionalmente (WHO, 2001; Center of Disease Control and Prevention, 1998) dentro de los valores de una población general de lactantes.

Para las determinaciones genéticas se ha realizado el método de reacción en cadena de la polimerasa, utilizado ampliamente en la literatura científica, ya descrito para cada una de las alteraciones que hemos analizado del gen HFE (Jouanolle et al., 1997; Mura et al., 1999).

El desarrollo psicológico del niño se ha determinado mediante las puntuaciones del Índice de Desarrollo Mental (IDM) y el Índice de Desarrollo Psicomotor (IDP) de la segunda edición de la Escala de Bayley, escala de referencia estandarizada para la evaluación infantil (Bayley, 1993).

La muestra presenta características similares en edad de la madre, porcentaje de fumadoras, edad gestacional y tipo de parto que las de otros estudios realizados en población europea (Paasche et al., 2012; Makgoba et al., 2012) y los valores medios de peso del recién nacido y antropométricos a los 0, 6 y 12 meses son

similares a los observados en estudios de países desarrollados (Friel et al., 2003; Dube et al., 2010).

A nivel antropométrico se observa que los niños son más grandes que las niñas en peso, talla y perímetro craneal durante el primer año de vida como ya se ha descrito en otros estudios (Demestre et al., 2009).

A nivel de desarrollo cognitivo no hemos detectado diferencias entre sexos y los valores muestran un desarrollo normal tanto a los 6 como a los 12 meses. Se determina que el desarrollo es normal cuando las puntuaciones oscilan entre 85 y 115, por lo que puede llamar la atención la baja puntuación media del IDP de los 6 meses. Actualmente existe la tercera edición de la Escala de Bayley, y al compararlas se ha observado que la segunda edición puntúa aproximadamente 7 puntos menos y se ha llegado a la conclusión de que la muestra de tipificación de la tercera edición es más representativa. De todas formas, las puntuaciones observadas en nuestra muestra se encuentran dentro del rango normal todo y ser algo inferiores (Alfonso et al., 2005).

#### **1. Frecuencia de la lactancia materna e introducción de alimentos**

Respecto a la evolución de la lactancia durante el primer año de vida, el 75.5% de la muestra realiza lactancia materna exclusiva al nacer, pero este valor va disminuyendo hasta llegar a tan solo un 16,5% a los 6 meses. Esta duración media sin embargo, si lo comparamos con el informe técnico sobre lactancia materna en España realizado por el Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría en el año 1999 (AEP, 1999), donde indica que a nivel nacional, la duración media de la lactancia materna exclusiva fue de 3.2 meses versus a los 3.9 que hemos observado en nuestro estudio.

Según los datos de la Encuesta Nacional de Salud (ENS) realizada por el Ministerio de Sanidad y Consumo entre los años 1995 y 1997, la prevalencia de lactancia materna exclusiva a los 3 meses de edad era del 37,4 y 43,8% respectivamente, mientras que la prevalencia en nuestra muestra es superior, siendo de un 50,7%. A los 6 meses, según la ENS, la prevalencia de lactancia materna exclusiva fue del 15,1% en 1995 y del 21,2% en 1997, en este caso nuestra población se encuentra en un valor intermedio, ya que la prevalencia de

lactancia materna observada a los 6 meses es del 16.5% (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006).

En otros estudios europeos y de nuestro entorno, el porcentaje de individuos que toman lactancia materna a los 6 meses es superior, como el de Hostalot et al., en población catalana, donde encontraron una prevalencia del 39% o el estudio de Thorisdottir et al., en Islandia, donde a los 6 meses siguen tomando leche materna el 38% de los niños (Hostalot et al., 2001; Thorisdottir et al., 2011). Por el contrario, el trabajo de Thorisdottir et al. refleja la introducción temprana de la leche de vaca, ya que a los 12 meses la toman el 54,5% cosa que no se observa en el presente trabajo, ya que ningún niño a los 12 meses consume leche de vaca.

Datos obtenidos de 64 países sugieren que la situación de la lactancia materna viene mejorando en los últimos años. Concretamente, del 1996 al 2006 la lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses incrementó del 33% al 37%. Más concretamente en países europeos, el aumento fue del 10% al 19% (UNICEF, 2007).

Chávez et al. determinaron en población Mejicana las principales causas de abandono de la lactancia materna, indicando que en primer lugar es la disminución de la producción de leche, y en segundo, la aparición de mastitis (Chávez et al., 2002). En España, como ha ocurrido globalmente, ha disminuido la lactancia materna en los últimos años debido a la urbanización, la comercialización de sucedáneos de leche materna y una mayor incorporación de mujeres al mundo laboral, por este motivo, es fundamental seguir promocionando la lactancia materna para intentar frenar esta disminución.

Respecto al mes de introducción de alimentos en el lactante, se observa que en general, la mayoría de los niños estudiados se adecua a las recomendaciones establecidas por el Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya, aunque, la fruta, los cereales sin gluten, la carne de pollo y el pescado se introducen un mes antes de lo aconsejado (Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya, 2009).

## 2. Estado bioquímico del hierro

Al determinar el nivel de ferritina sérica al nacer, se ha podido observar que todos los niños nacen con buenas reservas de hierro, superiores a 25µg/L de ferritina sérica. Estos resultados confirman, como ya se ha descrito con anterioridad, que los niños nacen con depósitos de hierro suficientes para cubrir las necesidades durante el primer semestre de vida (Hallberg, 2001; Griffin y Abram, 2001; Domellöf, 2011).

A los 6 meses las niñas presentan valores superiores de hemoglobina corpuscular media (HCM) y volumen corpuscular medio (VCM). En 2002, el grupo de Domellöf et al., ya observó valores significativamente inferiores de VCM, Hemoglobina y ferritina sérica, y mayores valores de receptores solubles de transferrina en niños tanto a los 4 como a los 6 y 9 meses. Una posible explicación sería las deficiencias del metabolismo hormonal entre niños y niñas. Aunque el mecanismo no se conoce, parece ser que las diferencias entre la síntesis de masa corporal magra y grasa podría interferir indirectamente en el metabolismo del hierro (Domellöf et al., 2002).

A los 12 meses parece revertir esta situación ya que observamos diferencias en los hematíes y la ferritina sérica, parámetros significativamente superiores en los niños.

En nuestros resultados se observa que a los 6 meses casi el 9% de los bebés presentan depleción de las reservas de hierro ( $FS < 12\mu\text{g/L}$ ), el 4,5% presenta déficit de hierro y el 17,3% presentan anemia ferropénica. Se confirma así que los lactantes son un grupo de población susceptible a presentar carencias de hierro incluso en países desarrollados tal y como se ha observado en otros estudios (Makrides et al., 1998; Hay et al., 2004).

Al comparar las cifras obtenidas con otros estudios realizados en lactantes de 6 meses, se observan resultados controvertidos, Makrides et al. en Australia y Domellöf et al. en Honduras obtuvieron un déficit de hierro del 15% y del 18,8% respectivamente (Domellöf et al., 2001; Makrides et al., 1998). Beristain et al. en México y Lozoff et al. en Chile obtuvieron un déficit de hierro del 44,9% y del 34,9% respectivamente (Beristain et al., 2010; Lozoff et al., 2006a). En cambio Hay et

al. observaron en población noruega un déficit de hierro del 4% cifra similar a la de nuestros resultados (Hay et al., 2004).

Esta controversia puede deberse a las diferencias socioeconómicas entre países en vías de desarrollo donde la prevalencia de déficit de hierro es mayor frente a la de países desarrollados.

Por otro lado, no hay unos criterios claros de normalidad de los parámetros bioquímicos del estado en hierro en niños. Para la determinación de déficit de hierro y anemia ferropénica los organismos internacionales recomiendan la combinación de dos o tres parámetros alterados, en cambio, para estadios carenciales más precoces se dispone de un marcador muy específico: la ferritina sérica, ya que sus niveles solo disminuyen si existe una depleción de los depósitos de hierro (WHO, 2001; Center of Disease Control and Prevention 1998; Dallman, 1995).

Al año se observa como los valores de depleción de reservas de hierro y anemia se invierten, la prevalencia de ferritina sérica baja es del 16,7% y el porcentaje de anemia ferropénica es del 4,2%. Estos valores difieren de los encontrados en otras poblaciones, así Lozoff et al. en Xile y Hay et al. en Noruega describen una prevalencia de depleción de las reservas de casi el 35% y 10% respectivamente (Lozoff et al., 2006a; Hay et al., 2004). Nuestros valores, se asemejan más a los resultados del estudio Euro-Growth Study presentados por Male et al. donde el déficit de hierro a los 12 meses es del 15,6% (Male et al., 2001).

Al analizar la anemia ferropénica a los 6 meses se observa una prevalencia del 17,3%. En este caso, sigue la controversia al compararlo con otros trabajos ya que Makrides et al. y Domellöf et al. obtuvieron una prevalencia del 1%, en el estudio elaborado por Friel et al. en Canadá la prevalencia fue del 14%, y en el trabajo de Beristain et al. fue del 26.3% (Domellöf et al., 2001; Makrides et al., 1998; Friel et al., 2003; Beristain et al., 2010).

Estos elevados porcentajes de anemia podrían justificarse con lo que se define como anemia fisiológica del lactante. A partir de la primera semana de vida los niveles de hemoglobina de los niños van disminuyendo progresivamente (Dallman y Siimes, 1979). Esto se produce porque aumentan los niveles de oxígeno en

sangre y la aportación a los tejidos, lo que inhibe la eritropoyesis y disminuye la concentración de hemoglobina por falta de substitución de los eritrocitos viejos (Griffin y Abrams, 2001). A las doce semanas el niño puede presentar niveles de hemoglobina entre 9 y 11 g/dL. De todas formas, el hierro almacenado permitirá la síntesis de hemoglobina hasta la semana 20 aproximadamente, por lo que la situación no supone alteración hematológica alguna y no requiere de ningún tratamiento. Los niveles de hemoglobina se irán recuperando de forma progresiva gracias a la introducción de alimentos a partir de los 4-6 meses, este podría ser el motivo por el cual en las analíticas de los 6 meses se observa un elevado porcentaje de anemia (Christensen y Robin, 2004).

En cuanto a la prevalencia de anemia a los 12 meses, Hopkins et al. observan un 18% de anemia a los 12 meses en población inglesa y Male et al. un 2.3% en población europea. En ambos estudios, se determinó anemia cuando los valores de Hemoglobina fueron inferiores a 11 mg/L. Durá y Díaz estudiaron población española y obtuvieron resultados similares a los nuestros, una prevalencia de anemia a los 12 meses de 4.3%, en este caso Durá y Díaz determinaron anemia ferropénica cuando los niveles de hemoglobina fueron inferiores a 11 g/dL junto con la presencia de algún otro parámetro del hierro alterado (ferritina, VCM, ST) (Hopkins et al., 2007; Durá y Díaz, 2002; Male et al., 2001).

Para entender las diferencias a lo largo de los 12 meses en la prevalencia de los estados carenciales de hierro, tenemos que tener presente los factores de riesgo para padecer déficit de hierro o anemia ferropénica. Se ha determinado que a menor nivel socioeconómico mayor es el riesgo de presentar déficit de hierro (WHO, 2001), además el hecho de nacer prematuro o con bajo peso al nacer es otro factor de riesgo, junto con el hecho de alargar más allá de los 6 meses la lactancia materna y/o introducir de forma temprana la leche de vaca, ya que en ambos casos aumenta el riesgo de déficit de hierro o anemia (Monteagudo y Ferrer, 2010).

### **3. Hepcidina**

Otro de los objetivos de este trabajo ha sido describir los niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses. Al ser un parámetro relativamente recientemente, a día de hoy todavía se desconocen los valores de normalidad. El alto coste económico en su determinación también ha limitado la realización de estudios.

La hepcidina es la principal hormona reguladora de la absorción de hierro. Al aumentar los niveles de hierro plasmático aumenta también la síntesis de hepcidina y en situación de déficit de hierro, los niveles de la hormona disminuyen para favorecer la absorción de hierro (Pigeon et al., 2001).

Al querer comparar los resultados obtenidos vemos que son muy pocos los estudios que han analizado la hepcidina y menos en población infantil. Berglund et al. lo han estudiado en lactantes con bajo peso al nacer desde la sexta semana de vida hasta los 6 meses, suplementándolos con 3 dosis de hierro, placebo, 1 o 2 mg/kg/día. Sus resultados muestran que los niveles de hepcidina no se modifican en el grupo placebo, y aumentan en los dos grupos suplementados, observando que los niños tienen mayores niveles de hierro (Berglund et al., 2011). Los niveles de hepcidina a los 6 meses encontrados por Berglund et al. en el grupo placebo son de 13 ng/mL. En nuestra muestra, los lactantes presentan niveles superiores de hepcidina, con una media geométrica a los 6 meses de 44,9 ng/mL. Esta diferencia entre un estudio y otro se puede atribuir a que Berglund et al. estudian lactantes con bajo peso al nacer con menos reservas de hierro al nacer y mayor riesgo de déficit de hierro (WHO, 2001), por lo que es posible que sus niveles de hepcidina estén disminuidos para facilitar una mayor absorción de hierro dietético.

Por otra parte, Berglund et al. después de suplementar con dos dosis de hierro (1 mg/kg/día y 2 mg/kg/día) desde la sexta semana de vida hasta los seis meses, observaron que los niveles de hepcidina aumentaron de 13 ng/mL en el grupo placebo a 19,2 ng/mL en el grupo suplementado con la dosis más alta de hierro. Resultados similares encontraron Malyszko et al. en población adulta en hemodiálisis suplementada en hierro, donde también observaron un aumento de los niveles de hepcidina (Berglund et al., 2011; Malyszko et al., 2009). Si comparamos a los 6 meses los niveles de hepcidina de nuestra muestra en función del tipo de lactancia que han seguido hasta esa edad, se observa que los niños alimentados con lactancia materna y mixta presentan valores de hepcidina inferiores a los alimentados con lactancia artificial, y esto puede explicarse por el hecho que la leche artificial está fortificada en hierro, y ante una mayor cantidad de hierro ingerido el organismo responde aumentando los niveles de hepcidina para disminuir su absorción.

Este efecto también lo observamos en nuestro ensayo clínico al comparar los niveles de hepcidina entre los niños que han tomado leche fortificada a dosis altas y bajas de hierro, donde los niños que han tomado la dosis alta de hierro tienen mayores niveles de hepcidina.

Al comparar los niveles de hepcidina entre sexos, no se observan diferencias significativas, pero si al analizar la evolución de los niveles de los 6 a los 12 meses, ya que al año los lactantes presentan valores superiores de hepcidina.

En otro estudio reciente realizado en Alemania el año 2010, se analizaron los niveles de hepcidina de recién nacidos prematuros y con anemia, y sus niveles medios de hepcidina fueron de 52.4 ng/mL (Müller et al., 2012). Este valor es aproximadamente el 30% menor que el determinado en sangre de cordón umbilical en niños nacidos a término por Rehu et al. en Finlandia (Rehu et al., 2011). Estas diferencias probablemente sean porque los niños pretérmino en comparación con los nacidos a término presentan menores reservas de hierro, por lo que la hepcidina será menor para facilitar la absorción del hierro.

Al comparar los valores pediátricos con los de adultos sanos, los primeros son menores, tanto en niños sanos como enfermos, ya que para hombres el valor medio de hepcidina es de 112 ng/mL y para mujeres de 65 ng/mL (Ganz et al., 2008). Posiblemente esta diferencia se deba a que en niños la necesidad de hierro durante el proceso de crecimiento es mayor que en la edad adulta.

#### **4. Gen HFE**

Al descubrirse en 1996 el gen HFE (Feder et al., 1996), muchos investigadores han descrito la prevalencia de sus alteraciones principales (C282Y, H63D y S65C).

La mutación C282Y parece ser que tiene su origen en un solo antepasado de origen celta en el norte de Europa hace unos 2000 años (Lucotte et al., 2003; Milman et al., 2003). Este defecto genético, que no causó ningún obstáculo serio a la reproducción y pudo incluso haber conferido algunas ventajas como son la resistencia a la deficiencia dietética del hierro y a ciertas enfermedades infecciosas, fue extendido a través de la migración de dicha población. En la actualidad, la mutación C282Y de forma homocigota y el compuesto C282Y/H63D son las formas genotípicas con mayor penetrancia. El resto de genotipos tienen

una expresión fenotípica más leve o moderada (Beutler et al., 1996; Feder et al., 1997; Waheed et al., 1997).

Una vez descrita la prevalencia de las principales mutaciones del gen HFE, hemos estudiado el estado en hierro en función de la presencia o no de algunas de las alteraciones en el gen HFE. En los resultados no se observan diferencias entre ambos grupos tanto a los 6 como a los 12 meses. Nuestro grupo publicó datos en población adulta y se observó una clara relación entre la presencia de alteración en el gen HFE y el aumento de los niveles de hierro (Aranda, 2010).

Probablemente, en los lactantes todavía no se observa el efecto fenotípico de la presencia de las alteraciones genéticas ya que en esta etapa de la vida las necesidades de hierro están aumentadas debido al proceso de crecimiento y desarrollo.

### **5. Efecto del ensayo clínico sobre el desarrollo del lactante**

Hemos querido estudiar también el efecto del tipo de lactancia durante el primer semestre de vida sobre el desarrollo del lactante.

A nivel antropométrico no se observan diferencias significativas en función del tipo de lactancia que realizan los niños durante el primer año de vida.

La ingesta de los lactantes a los 6 meses difiere según el tipo de lactancia que realizan y esto refleja la tendencia que los niños alimentados con lactancia artificial inician la introducción de alimentos más precozmente.

En cuanto al estado bioquímico del hierro, como era de esperar, a los 6 meses observamos que los niños que toman lactancia artificial presentan niveles superiores de hematocrito, hemoglobina, VCM, HCM y saturación de transferrina que los niños alimentados con lactancia materna o mixta debido a la fortificación con hierro de la leche artificial. Dewey et al. observaron a los 6 meses resultados similares a los nuestros, realizaron un estudio en bebés alimentados con lactancia materna exclusiva, en el que a partir del cuarto mes unos continuaron la lactancia materna exclusiva y otros introdujeron alimentos fortificados en hierro, y observaron que los niños que iniciaron la introducción de alimentos fortificados en hierro presentaron mayores valores de hematocrito, hemoglobina y ferritina sérica en comparación con los niños alimentados con lactancia materna exclusiva (Dewey et al., 1998).

Igualmente en el trabajo de Calvo et al. analizaron los parámetros hematológicos y bioquímicos del hierro a los 6 meses en dos grupos de niños, unos alimentados con lactancia materna y otros con lactancia artificial. En este caso no encontraron diferencias significativas en hemoglobina y hematocrito pero sí en los niveles de ferritina sérica que fue inferior en el grupo de niños alimentados con lactancia materna (Calvo et al., 1992). Con estos datos podemos afirmar que los niños alimentados con lactancia materna exclusiva son más susceptibles a presentar depósitos de hierro bajos. Sin embargo, aunque presentan niveles menores de hierro que los bebés alimentados con lactancia artificial, son probablemente suficientes para sus requerimientos, ya que, a los 12 meses estas diferencias se corrigen cuando lo relacionamos con el tipo de lactancia. Esta corrección puede deberse a la incorporación progresiva durante el segundo semestre de vida de la alimentación complementaria, con la que va aumentando la ingesta de hierro mediante alimentos fortificados en hierro como pueden ser los cereales infantiles y alimentos ricos en hierro como la carne.

Al estudiar el efecto de la lactancia sobre el desarrollo psicológico del bebé, no se observan diferencias a los 6 meses, pero a los 12 meses se observa que en nuestra población los bebés alimentados con lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses presentan mejores puntuaciones en el índice de desarrollo mental (IDM) en comparación con los niños alimentados con lactancia mixta o artificial.

A partir de los 6 meses se realizó un ensayo clínico donde se dividió la muestra de forma aleatoria en función del tipo de leche fortificada en dosis alta o baja de hierro que tomaron hasta los 12 meses. La dosis alta fue de 1,16 mg/100 ml de leche y la baja de 0.44 mg/100ml de leche, valores dentro del intervalo recomendado para la fortificación de leches infantiles (ESPGHAN, 2005). Al analizar los resultados obtenidos sobre el desarrollo de los niños a los 12 meses, se observa que a nivel antropométrico los niños alimentados con leche con dosis alta en hierro tienen mayor talla, además, al valorar el estado en hierro, se observa que los niños que han tomado la leche con dosis alta de hierro presentan menor prevalencia de déficit de hierro y anemia ferropénica que los niños alimentados con la leche con dosis baja de hierro. Este dato nos hace pensar que la fortificación en hierro de la leche artificial de continuación en dosis altas ayuda a mantener un mejor estado en hierro a los 12 meses.

Psicane et al., en Italia, realizaron un estudio con bebés alimentados con lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses. Los niños que abandonaron la lactancia materna y tomaron leche fortificada con dosis baja de hierro fueron los que presentaron menor prevalencia de anemia y de depósitos bajos de hierro a los 12 meses, demostrando así que la leche fortificada en hierro proporciona mejor perfil hematológico y bioquímico del hierro a los 12 meses (Pisacane et al., 1995). A la misma conclusión llegaron Friel et al. que después de suplementar con hierro oral a bebés alimentados con leche materna observaron beneficios a nivel hematológico pero también psicológico (Friel et al., 2003).

En Suecia, Domellöf estudió el efecto de la suplementación en hierro mediante gotas orales y mediante la fortificación de cereales, y observó que la fortificación alimentaria proporcionó mejores niveles de hemoglobina en lactantes a los 9 meses (Domellöf et al., 2008).

Zeigler en Estados Unidos realizó un estudio similar donde también observó en lactantes alimentados con lactancia materna exclusiva hasta los 4 meses que la suplementación de los 4 a los 9 meses frente a los lactantes no suplementados mejora el estado bioquímico del hierro (Zeigler et al., 2009).

A los 12 meses se ha estudiado el efecto conjunto del tipo de lactancia durante los primeros 6 meses y el efecto de la leche fortificada en hierro sobre el desarrollo psicológico del lactante, observándose que tanto la lactancia materna durante los primeros 6 meses como el hecho de tomar leche fortificada en dosis altas de hierro aumenta las puntuaciones del IDM.

La valoración cognitiva se realizó mediante la Escala de Bayley, escala de referencia estandarizada para la evaluación infantil (Bayley, 1993). Otros estudios como el de Shafir et al. valoraron el desarrollo psicológico mediante otras escalas como el *Peabody Developmental Motor Scale* y la *Infant Neurological International Battery*, y observaron que los niños con depósitos bajos de hierro, con o sin anemia, presentaron un desarrollo motor inferior en comparación con los niños con depósitos de hierro normales (Shafir et al., 2008).

En una reciente revisión analizaron el efecto de la suplementación en hierro sobre el desarrollo mental y psicomotor en niños concluyendo que la suplementación ejerce un efecto beneficioso sobre el desarrollo psicomotor aun y no altera el estado mental (Szajewska et al., 2010). También en la revisión realizada por

Kordas, se concluyó que el déficit de hierro con anemia afecta al rendimiento en las pruebas mentales, motoras y de desarrollo de lenguaje, y se asoció a la anemia con un menor procesamiento neuronal. En bebés suplementados con hierro se vio que las puntuaciones de las pruebas cognitivas fueron mejores (Kordas, 2010).

Una revisión más reciente determina que la suplementación con hierro durante un mínimo de 2 meses produce un modesto efecto positivo sobre el desarrollo cognitivo en niños con anemia (Hermoso et al., 2011).

Numerosos estudios han analizado el efecto de la lactancia materna sobre el desarrollo cognitivo del niño, y se sigue respaldando la recomendación de la OMS sobre realizar de forma exclusiva lactancia materna hasta los 6 meses ya que se ha confirmado, como mostramos en el presente estudio, que los lactantes que han tomado leche materna, aunque sea por un corto periodo de tiempo, presentan mejor desarrollo cognitivo (Jedrychowski et al., 2012).

Dado el importante papel que representa el hierro en los procesos de neurodesarrollo es necesario prevenir el déficit de hierro en la infancia. Hasta los 6 meses los lactantes presentan reservas suficientes de hierro, y será a partir de esta edad que tendrá especial importancia la alimentación complementaria y el consumo de alimentos con hierro o fortificados para poder cubrir así los requerimientos del niño y asegurar un correcto desarrollo nutricional y psicológico del lactante.

Confirmamos finalmente la importancia de la leche materna para un correcto desarrollo cognitivo del niño y el importante papel que desempeña el hierro en el proceso de formación del sistema nervioso.

#### **6. Limitaciones del estudio**

Nuestro estudio presenta ciertas limitaciones, en primer lugar, un estudio con bebés implica ser muy estrictos con la programación de las visitas, ya que, durante este periodo de tiempo se producen grandes cambios en pocas semanas tanto a nivel alimentario como a nivel cognitivo. Esto ha supuesto muy poco margen para poder citar a los niños, tanto a los 6 como a los 12 meses, y un motivo de exclusión de aquellos que no pudieron ser visitados en uno u otro período.

Por otra parte, el tamaño de la muestra no ha permitido dividir a los sujetos en subgrupos para poder ver el efecto sobre el desarrollo del niño del tipo de lactancia de los 0 a los 6 meses y el tipo de leche administrada alta o baja en hierro en función del estado deficitario del hierro.

En el ensayo clínico aleatorio existe una diferencia considerable entre el número de niños que tomaron la dosis alta de hierro y los que la tomaron baja. Esto se debe a que, en el estudio longitudinal se siguieron un mayor número de niños de los que participaron en el ensayo clínico aleatorio, y se optó por clasificar al total de los niños en función de la dosis de hierro que contenía la leche comercial que tomaron. Observamos así, que las principales marcas comerciales de leche de continuación que existen en el mercado están fortificadas con la dosis alta de hierro de nuestro ensayo.

## CONCLUSIONES



## CONCLUSIONES

*En relación a las características de los niños de nuestro estudio:*

1. A los 6 meses, el 16,5% realizan lactancia materna exclusiva, el 20,3% realizan lactancia mixta y el 63,2% artificial.
2. Los niños de nuestra población introducen de forma anticipada a lo recomendado por la Generalitat de Catalunya los cereales sin gluten, la fruta, el pollo y el pescado.
3. Un 4,5% y 17,3% de los niños de nuestra población presentan déficit de hierro y anemia ferropénica respectivamente a los 6 meses y un 9,2% y un 4,2% a los 12 meses.
4. Un 39,5% de los niños de nuestra población presentan alguna de las principales alteraciones en gen HFE (C282Y, H63D y S65C).

*En relación a la hepcidina:*

5. Los niveles de hepcidina aumentan de forma significativa de los 6 (46.61ng/mL;DT: 20.33) a los 12 meses (56.26 ng/mL ;DT: 25.83;  $p<0.001$ ).
6. Los niños que presentan algún parámetro del hierro alterado tienen menores niveles de hepcidina a los 6 y a los 12 meses que aquellos cuyo estado de hierro es normal. Los niveles de hepcidina aumentan de forma significativa a medida que aumenta la ferritina sérica a los 12 meses.
7. A los 6 meses, los niños que realizan lactancia artificial presentan mayores niveles de hepcidina que aquellos que realizan lactancia materna y/o mixta. A los 12 meses no observamos diferencias significativas en los niveles de hepcidina en función del tipo de leche fortificada con dosis alta o baja de hierro.

*En relación al tipo de lactancia durante los primeros 6 meses de vida:*

8. A los 6 meses no se observan diferencias en los parámetros antropométricos ni en el desarrollo cognitivo en función del tipo de lactancia seguida a pesar que los niños alimentados con lactancia artificial presentan menores porcentajes de déficit de hierro y anemia ferropénica respecto los niños con lactancia materna y/o mixta.

*En relación al contenido de hierro en la leche infantil fortificada de los 6 a los 12 meses de vida:*

9. A los 12 meses, los niños alimentados con la leche fortificada con la dosis alta de hierro presentan mayor talla, menor porcentaje de déficit de hierro y de anemia ferropénica y mayor puntuación en el índice de desarrollo mental respecto a los alimentados con la leche fortificada con la dosis baja de hierro.

*Efecto del tipo de lactancia y del contenido de hierro en la leche infantil fortificada:*

10. La lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses aumenta el índice de desarrollo mental y psicomotor a los 12 meses en los niños de nuestra población. Además, la ingesta de leche fortificada con la dosis alta en hierro durante el segundo semestre de vida también favorece una mayor puntuación del índice de desarrollo mental.

## BIBLIOGRAFIA



**BIBLIOGRAFÍA**

Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000; 30; 275: 19906-19912.

AEP (Asociación Española de Pediatría), Comité de Lactancia Materna. Informe técnico sobre la lactancia materna en España. *An Esp Pediatr* 1999; 50: 333-340.

Aisen P, Listowsky I. Iron and storage proteins. *Annu Rev Biochem* 1980; 49: 357-393.

Alfonso V, Russo T, Fortugno D, Rader D. Critical review of the Bayley Scales of infant development-second edition: Implications for assessing Young children with developmental delays. *The School Psychologist* 2005; 67-73.

Altés A, Ruiz A, Barcelo MJ, Remacha AJ, Puig T, Maya AJ et al. Prevalence of the C282Y, H63D, and S65C mutations of the HFE gene in 1,146 newborns from a region of Northern Spain. *Genet Test* 2004; 8: 407-410.

Anderson GJ, Frazer DM, McKie AT, Vulpe CD, Smith A. Mechanisms of haem and non-haem iron absorption: lessons from inherited disorders of iron metabolism. *Biometals* 2005; 18: 339-48. Aisen P, Listowsky I. Iron and storage proteins. *Annu Rev Biochem* 1980; 49: 357-393.

Anderson GJ, Frazer DM, McKie AT, Vulpe CD, Smith A. Mechanisms of haem and non-haem iron absorption: lessons from inherited disorders of iron metabolism. *Biometals* 2005; 18: 339-348.

Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM. Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biometals* 2007; 20: 665-674.

Andrews NC, Bridge KR. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. En: Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998. 423-461.

Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341: 1986-1995.

Andrews NC. Understanding Heme Transport. *N Engl J Med* 2005; 353: 2508-2509.

Andrews NC, Schmidt PJ. Iron Homeostasis. *Annu Rev Physiol* 2007; 69: 69-85.

Andripoulos B, Corradini E, Xia Y, et al. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat Genet* 2009; 41: 482-487.

Aranda N, Viteri F, Motzerrat C, Arija A. Effects of C282Y, H63D and S65C HFE gene mutations, diet, and life-style factor on iron status in a general Mediterranean population from Tarragona, Spain. *Ann Hematol* 2010; 89: 767-773.

Arija V, Fernández J, Salas J. Carencia de hierro y anemia ferropénica en la población española. *Med Clin*. 1997; 109: 425-430.

Arija V, Viteri F. Deficiencias de nutrientes conducentes a anemia, su prevención y tratamiento. En: Serra LL, Aranceta J. *Nutrición y salud pública* 2ed. Barcelona: Masson; 2006: 393-705.

Ariznavarreta R. Fisiología de la absorción y Secreción intestinal. En: Tresguerres J.A.F. *Fisiología Humana* 2ed. Madrid. Ed McGraw Hill Interamericana de España; 1999: 722-736.

Attieh ZK, Mukhopadhyay CK, Seshadri V, Tripoulas NA, Fox PL. Ceruloplasmin ferroxidase activity stimulates cellular iron uptake by a trivalent cation-specific transport mechanism. *J Biol Chem* 1999; 274: 1116-1123.

Baker R, Greer F and The Committee on Nutrition. Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age). *Pediatrics* 2010; 126; 1040-1050.

Ballabriga A, Carrascosa A. *Nutrición en la infancia y adolescencia*. 3ª ed. Madrid: Ergon; 2006.

Barton JC, Sawada-Hirai R, Rothenberg BE, Acton RT. Two novel missense mutations of the HFE gene (I105T and G93R) and identification of the S65C mutation in Alabama hemochromatosis probands. *Blood Cells Mol Dis* 1999; 25: 147-155.

- Bayley, N. Bayley scales of infant development. 2nd ed. The Psychological Corporation, San Antonio; 1993.
- Beard J. Why iron deficiency is important in infant development. *J Nutr* 2008; 138: 2534-2536.
- Beguín Y. The soluble transferrin receptor: biological aspects and clinical usefulness as quantitative measure of erythropoiesis. *Haematologica* 1992; 77: 1-10.
- Beguín Y. Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 9-22.
- Bennet MJ, Lebron JA, Bjorkman PJ. Crystal structure of the haemochromatosis protein HFE complexed with transferrin receptor. *Nature* 2000; 403: 46-53.
- Benton D. Micronutrient status, cognition and behavioral problems in childhood. *Eur J Nutr* 2008; 47:38-50.
- Beristain R, Pasquetti A, Meléndez G, Sánchez OA, Cuevas SA. Evaluation of iron status in healthy six-month-old infants in Mexican population: Evidence of a high prevalence of iron deficiency. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab* 2010; 5: 37-39.
- Berglund S, Lönnnerdal B, Westrup B, Domellöf M. Effects of iron supplementation on serum hepcidin and serum erythropoietin in low-birth-weight infants. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 1553-1561.
- Beutler E, Gelbart T, West C, Lee P, Adams M, Blackstone R et al. Mutation analysis in hereditary hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 1996; 22: 187-94.
- Beutler E. Hemochromatosis: Genetics and Pathophysiology. *Annu Rev Med* 2006; 57: 331-347.
- Bezwdoda W, Bothwell T, Torrance J, MacPhail A, Charlton R, Kay G et al. The relationship between marrow iron stores, plasma ferritin concentrations and iron absorption. *Scand J Haematol* 1979; 22: 113-120.
- Black M. Integrated strategies needed to prevent iron deficiency and to promote early child development. *J Trace Elem Med Biol* 2012; 26: 120-123.

- Block G. A review of validations of dietary assessment methods. *Am J Epidemiol* 1982; 115: 492-505.
- Bothwell TH. Overview and mechanisms of iron regulation. *Nutr Rev* 1995; 53: 237-245.
- Britton RS, Ramm GA, Olynyk J, Singh R, O'eill R, Bacon BR. Pathophysiology of iron toxicity. *Adv Exp Med Biol* 1994; 356: 239-253.
- Brune M, Rossander-Hulten L, Hallberg L, Gleeerup A, Sandberg A. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytates and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. *J Nutr* 1992; 122: 442-449.
- Bueno M, Bueno O y Lázaro A. Lactancia materna. En: Bueno M, Sarrià A, Pérez J. *Nutrición en Pediatría*. 3ª ed. Madrid: Ergon; 2007: 143-155.
- Butte N. Energy requirements of infants. *Public Health Nutr* 2005; 8: 953-967.
- Calvo E, Galindo A, Aspnes N. Iron status in exclusively breast-fed infants. *Pediatr* 1992; 90: 375-380.
- Canonne-Hergaux F, Zhang AS, Ponka P, Gros P. Characterization of the iron transporter DMT1 (NRAMP2/DCT1) in red blood cells of normal and anemia mk/mk mice. *Blood* 2001; 98: 3823-3830.
- Carpenter CE, Mahoney AW. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 31: 333-367.
- Casanovas G, Swinkels DW, Altamura S, et al. Growth differentiation factor 15 in patients with congenital dyserythropoietic anaemia (CDA) type II. *J Mol Med Berl* 2011; 89: 811-816.
- Centers of Disease Control and Prevention. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998; 47: 1-29.
- Chávez A, Rodrigo G, Hantz O, Peña B, Arocha B. Causas de abandono de la lactancia materna. *Rev Fac Med UNAM* 2002; 45: 55-57.

Christensen R, Robin O. Enfermedades de la sangre. Anemia fisiológica de la lactancia. En: Behrman R, Kliegman R, Jenson H. Nelson Tratado de Pediatría. 17ª ed. Madrid: Elsevier; 2004: 1610-1611.

Conrad ME, Umbreit JN, Peterson RD, Moore EG, Harper KP. Function of integrin in duodenal mucosal uptake of iron. *Blood* 1993; 81: 517-521.

Conrad ME, Umbreit JN, Moore EG, Uzel C, Berry MR. Alternate iron transport pathway. *J Biol Chem* 1994; 269: 7169-7173.

Conrad ME, Umbreit JN. Pathways of iron absorption. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 336-55.

Cook J. Adaptation in iron metabolism. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 301-308.

Cook JD, Skikne BS, Baynes RD. FERUM transferrin receptor. *Annu Rev Med* 1993; 44: 63-74.

Dallman P, Siimes M. Percentil curves for hemoglobin and red cell volumen in infancy and childhood. *J Pediatr* 1979; 94: 26-31.

Dallman P, Yip R, Oski FA. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1993. p. 413-450.

Dallman P. Exámenes de laboratorios para el diagnóstico de la deficiencia de hierro en el lactante y en la primera infancia. *Anales Nestlé*. 1995; 53: 20-26.

De Armas MG, Megías SM, Modino SC, Bolaños PI, Guardiola PD, Alvarez TM. Importance of breastfeeding in the prevalence of metabolic syndrome and degree of childhood obesity. *Endocrinol Nutr* 2009; 56: 400-403.

Demestre X, Raspall F, Vila C, Sala P, Elizari MJ, Martínez-Nadal S, et al. Influence of socioeconomic factors on weight, length and head circumference measurements in newborns from 35 to 42 weeks gestational age. *An Pediatr* 2009; 70: 241-52.

Departament de salut de la Generalitat de Catalunya. Material de promoció de la lactància materna. Enquesta de lactància materna 2005. Disponible en:

<http://www.grupslactancia.org/es/federacion-catalunya/datos-de-2005>

(Consultado el 20 de Mayo de 2012).

Departament de salut de la Generalitat de Catalunya. Pla integral per a la promoció de la salut mitjançant l'activitat física i l'alimentació saludable. Recomanacions per a l'alimentació en la primera infància (de 0 a 3 anys). 2009.

Dewey KG, Beaton G, Fjeld C, Lönnerdal B, Reeds F. Protein requirements of infants and children. *Eur J Clin Nutr.* 1996; 50: S119-S147.

Dewey KG, Cohen RJ, Rivera LL, Brown KH. Effects of age of introduction of complementary foods on iron status of breast-fed infants in Honduras. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67: 878-884.

Domellöf M, Cohen R, Dewey K, Hernell O, Rivera L, Lönnerdal B. Iron supplementation of breast-fed Honduran and Swedish infants from 4 to 9 months of age. *J Pediatr* 2001; 138: 679-687.

Domellöf M, Dewey K, Cohen R, Landa L, Hernell O. Sex differences in iron status during infancy. *Pediatr* 2002; 110: 545-552.

Domellöf M, Lind T, Lönnerdal B, Persson LA, Dewey KG, Hernell O. Effects of mode of oral iron administration on serum ferritin and haemoglobin in infants. *Acta Paediatr* 2008; 97:1055-1060.

Domellöf M. Iron requirements in infancy. *Ann Nutr Metab* 2011; 59: 59-63.

Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403: 776-781.

Dube K, Schwartz J, Mueller MJ, Kalhoff H, Kersting M. Iron intake and iron status in breastfed infants during the first year of life. *Clin Nutr* 2010; 29:773-778.

Durà T, Díaz L. Prevalencia de la deficiència de ferro en lactants sanos de 12 mesos de edat. *An Esp Pediatr* 2002; 57: 209-214.

Ehrlich R, Lemonnier FA. HFE: a novel nonclassic class I molecule that is involved in iron metabolism. *Immunity* 2000; 13: 585-588.

ESPGHAN Committee on Nutrition. Complementary Feeding: A Commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 46: 99-110.

ESPGHAN (European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition). Disponible en:  
[http://espghan.med.up.pt/joomla/index.php?option=com\\_content&task=view&id=37&Itemid=64](http://espghan.med.up.pt/joomla/index.php?option=com_content&task=view&id=37&Itemid=64) (consultado el 15 de junio de 2010).

FAO/WHO/UNU, Organización Mundial de la Salud: Necesidades de Energía y de Proteínas. Informes de una Sesión Consultiva Conjunta de Expertos. Serie de Informes Técnicos N° 724, Ginebra: OMS, 1985.

Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13: 399-408.

Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, Lee VK, Mapa FA, Morikang E et al. The hemochromatosis founder mutation in HLAH HLAH disrupts beta-2-microglobulin interaction and cell surface expresion. *J Biol Chem* 1997; 272: 14025-14028.

Fernández-Álvarez, E. Crecimiento y Desarrollo. Desarrollo psicomotor del lactante. En: Cruz M. Tratado de Pediatría M. Cruz. 9ª ed. Madrid: Ergon; 2006: 865-870.

Fewtrell MS, Morgan JB, Duggan C, Gunnlaugsson G, Hibberd PL, Lucas A, et al. Optimal duration of exclusive breastfeeding: what is the evidence to support current recommendations? *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 635-638.

Finch CA, Huebers H, Eng M, Miller L. Effect of transfused reticulocytes on iron exchange. *Blood* 1982; 59: 364-369.

Finch CA, Huebers HA, Cazzila M, Bergamaschi G, Belloti V. Storage iron. In: Albertini A, Arosio P, Chiancone E, Drysdale J, eds. Ferritins and isoferritins as biochemical markers. Amsterdam: Elsevier; 1984: 3-21.

Finch CA, Belloti V, Stray S. Plasma ferritin determination as a diagnostic tool. *West J Med* 1986; 145: 657-663.

- Finch CA. Regulators of iron balance in human. *Blood* 1994; 84: 1697-1700.
- Finster M, Wood M. The Apgar score has survived the test of time. *Anesthesiology* 2005; 102: 855-857.
- Flanagan JM, Peng H, Beutler E. Effects of alcohol consumption on iron metabolism in mice with hemochromatosis mutations. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31: 138-143.
- Fleming MD, Trenor CC 3rd, Su MA, Foernzler D, Beier DR, Dietrich WF et al. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet* 1997; 16: 383-386.
- Fleming MD, Romano MA, Su MA, Garrick LM, Garrick MD, Andrews NC. Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1147-1153.
- Fleming RE, Migas MC, Holden CC, Waheed A, Britton RS, Tomatsu S, et al. Transferrin receptor 2: continued expression in mouse liver in the face of iron overload and in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2214-2219.
- Fleming R. Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis. *Annu. Rev. Physiol* 2002; 64: 663-680.
- Fleming RE, Bacon BR. Orchestration of iron homeostasis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1741-1744.
- Fleming RE, Britton RS. Iron Imports. VI. HFE and regulation of intestinal iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: 590-594.
- Fleming RE, Ponka P. Iron overload in human disease. *N Engl J Med* 2012; 366: 348-359.
- Fly AD, Czarnecki-Maulden GL. Iron bioavailability from hemoglobin and hemin in chick, rat, cat, and dog: a comparative study. *Nutr Res* 2000; 20: 237-248.
- Forellat M, Gautier du Défaix H, Fernández. N. Metabolismo del hierro. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2000; 16: 149-160.

- Frazer DM, Vulpe CD, McKie AT, Wilkins SJ, Trinder D, Cleghorn GJ et al. Cloning and gastrointestinal expression of rat hephaestin: relationship to other iron transport proteins. *Am J Physiol* 2001; 281: G931-G939.
- Frazer DM, Anderson GJ. The orchestration of body iron intake: how and where do enterocytes receive their cues?. *Blood Cell Molec Dis* 2003; 30: 288-297.
- Friel JK, Aziz K, Andrews WL, Harding SV, Courage ML, Adams RJ. A double-masked, randomized control trial of iron supplementation in early infancy in healthy term breast-fed infants. *J Pediatr* 2003; 143: 582-586.
- Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008; 112: 4292-4297.
- Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823: 1434-1443.
- Gao J, Chen J, Kramer M, Tsukamoto H, Zhang AS, Enns CA. Interaction of the hereditary hemochromatosis protein HFE with transferrin receptor 2 is required for transferrin-induced hepcidin expression. *Cell Metab* 2009; 9: 217-227.
- García-Algar O, Gálvez F, Gran M, Delgado I, Boada A, Puig C, et al. Hábitos alimentarios de niños menores de 2 años según el origen étnico de los progenitores en un área urbana de Barcelona. *An Pediatr* 2009; 70: 265-270.
- García-Casal M, Leets I, Layrissa M.  $\beta$ -carotene and inhibitors of iron absorption modify iron uptake by Caco-2cells. *J Nutr* 2000; 130: 5-9.
- García-Lorda P. Dieta controlada en hierro. En: Salas-Salvadó J, Bonada A, Trallero A, Saló M. *Nutrición y dietética clínica*. 1ª ed. Barcelona: Masson; 2000: 377-387.
- Georgieff MK. Long-term brain and behavioral consequences of early iron deficiency. *Nutr Rev* 2011; 69: 43-48.
- Gil A, Uauy R, Dalmau J y Comité de Nutrición de la AEP. Bases para una alimentación complementaria adecuada de los lactantes y niños de corta edad. *An Pediatr* 2006; 65: 481-495.

Gimferrer E, Ubeda J, Royo MT. El Receptor de la transferrina. *Bioferrum* 1996; 1: 49-50.

Gomez F, Simo JM, Camps J, Cliville X, Bertran N, Ferre N et al. Evaluation of a particle-enhance turbidimetric immunoassay for the measurement of ferritin: application to patients participating in an autologous blood transfusion program. *Clin Biochem* 2000; 33: 191-196.

Grantham-McGregor S, Ani C. A Review of Studies on the Effect of Iron Deficiency on Cognitive Development in Children. *J Nutr.* 2001; 131: 649-666.

Griffin IJ, Abrams SA. Iron and breastfeeding. *Pediatr Clin North Am.* 2001; 48: 401-413.

Gross CN, Irrinki A, Feder JN, Enns CA. Cotrafficking of HFE, a nonclassical major histocompatibility complex class I protein, with the transferrin receptor implies a role in intracellular iron regulation. *J Biol Chem* 1998; 273: 22068-22074.

Gruenheid S, Canonne-Hergaux F, Gauthier S, Hackam DJ, Grinstein S, Gros P. The iron transport protein NRAMP2 is an integrated membrane glycoprotein that localizes with transferrin in recycling endosomes. *J Exp Med* 1999; 189: 831-841.

Gunnarsson BS, Thorsdottir I, Palsson G. Iron status in 2-year-old Icelandic children and associations with dietary intake and growth. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 901-906.

Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388: 482-488.

Hallberg L, Brune M, Erlandsson M, Sandberg AS, Rossander-Hulten L. Calcium:effect of different amounts on nonheme and heme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 112-119.

Hallberg L, Rossander-Hulten L, Brune M, Gleerup A. inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br J Nutr* 1992; 69: 533-540.

- Hallberg L, Hulten L, Gramatkovski E, Hallberg L. Iron absorption from the whole diet in men: how effective is the regulation of iron absorption. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 347-356.
- Hallberg L. Does calcium interfere with iron absorption?. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 3-4.
- Hallberg L. Perspectives on nutritional iron deficiency. *Annu Rev Nutr* 2001; 1-21.
- Hanson EH, Imperatore G, Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. *Human Genome Epidemiology. Am J Epidemiol* 2001; 154: 193-206.
- Harrison PM, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1275: 161-203.
- Haschke F, Vanura H, Male C, Owen G, Pietschnig B, Schuster E, et al. Iron nutrition and growth of breast- and formula fed-infants during the first 9 months of life. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 151-156.
- Haupt H, Baudner S. Chemie und Klinische bedeutung der human. Plasma Proteine. *Behring Institut Mitteilungen* 1990; 86: 1-66.
- Hay G, Sandstad B, Whitelaw A, Borchlohn B. Iron status in a group of Norwegian children aged 6-24 months. *Acta Paediatr* 2004; 93: 592-598.
- Heird W. Necesidades nutricionales. En: Behrman R, Kliegman R, Jenson H. *Nelson Tratado de Pediatría*. 17ª ed. Madrid: Elsevier; 2004: 153-161.
- Herbert V, Jayatilleke E, Shaw S, Rosman A, Giardina P, Grady R et al. Serum ferritin iron, a new test, measures human body iron stores unconfounded by inflammation. *Stem Cells* 1997; 15: 291-296.
- Hermoso M, Vucic V, Vollhard C, Arsic A, Roman B, Iglesia I, et al. The effect of iron on cognitive development and function in infants, children and adolescents: a systematic review. *Ann Nutr Metab* 2011; 59: 154-165.
- Hernández C, Genescà J, Ignasi JE, García L, Simó R. Relación entre reserva de hierro y diabetes mellitus en pacientes con infección por virus de la Hepatitis C: un estudio de casos y controles. *Med Clin* 2000; 115: 21-22.

Hernández M, Agudo J. La lactancia materna. Cómo promover y apoyar la lactancia materna en la práctica pediátrica. Recomendaciones del comité de lactancia de la AEP. *An Pediatr* 2005; 6: 340-356.

Holmström P, Marmur J, Eggertsen G, Gafvels M, Stal P. Mild iron overload in patients carrying the HFE S65C gene mutation: a retrospective study in patients with suspected iron overload and healthy controls. *Gut* 2002; 51: 723-730.

Hopkins D, Emmett P, Steer C, Rogers I, Noble S, Emond A. Infant feeding in the second 6 months of life related to iron status: an observational study. *Arch Dis Child* 2007; 92: 850-854.

Hostalot AM, Sorní A, Jovaní L, Rosal J, Mercé J, Iglesias J, et al; Lactancia materna en el sur de Cataluña. Estudio de los factores socioculturales y sanitarios que influyen en su elección y mantenimiento. *An Esp Pediatr*. 2001; 54: 297-302.

Hubbs-Tait L. Main and interaction effects of iron, zinc, lead, and parenting on children's cognitive outcomes. *Dev. Neuropsychol* 2009; 34: 175-195.

Huebers HA, Finch CA. The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiol Rev* 1987; 67: 520-582.

Hulten L, Gramatkovski E, Gleerup A, Hallberg L. Iron absorption from the whole diet. Relation to meal composition, iron requirements and iron stores. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: 794-808.

Hurrell R, Jullerat M, Reddy M, Lynch S, Dassenko S, Cook J. Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 573-578.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. En: *Dietary Reference : The esencial guide to nutrient requirements*. Washington: National Academy Press, 2006.

Jackson L, Lee K. The effect of dairy products on iron bioavailability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 31: 259-270.

Jacobs A. ferritin: An interim review. *Curr top hematol*. 1985; 15: 25-62.

- Jedrychowski W, Perera F, Jankowski J, Butscher M, Mroz E, Flak E, et al. Effect of exclusive breastfeeding on the development of children's cognitive function in the Krakow prospective birth cohort study. *Eur J Pediatr*. 2012; 171: 151-158.
- Jordan I, Kaplan J. The mammalian transferrin-independent iron transport system may involve a surface ferrireductase activity. *Biochem J* 1994; 302: 875-879.
- Jouanolle AM, Fergelot P, Gandon G, Yaouanq J, Le Gall JY, David V. A candidate gene for hemochromatosis: frequency of the C282Y and H63D mutations. *Hum Genet* 1997; 100: 544-547.
- Kane A, Millar D. In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 393-401.
- Kaplan J, Jordan I, Sturrock A. Regulation of the transferrin-independent iron transport system in cultured cells. *J Biol Chem* 1991; 266: 2997-3004.
- Kautz L, Meynard D, Monnier A, et al. Iron regulates phosphorylation of Smad1/5/8 and gene expression of Bmp6, Smad7, Id1, and Atoh8 in the mouse liver. *Blood* 2008; 112: 1503-1509.
- Kawabata H, Germains RS, Vuong PT, Nakamaki T, Said JW, Koeffler HP. Transferrin receptor 2- $\alpha$  supports cell growth both in iron-chelated cultured cells and in vivo. *J Biol Chem* 2000; 275: 16618-16625.
- Kildahl-Andersen O, Dahl IM, Thorstensen K, Sagen E. Iron deficiency anemia in a patient with excessive urinary iron loss. *Eur J Haematol* 2000; 64: 204-205.
- Koletzko B, Baker S, Cleghorn G, Fabundes-Neto U, Gopalan S, Hernell O et al. Global standard for the composition of infant formula: Recommendations of an ESPGHAN coordinated international expert group. *J Pediatr Gastroenterol* 2005; 41: 584-599.
- Kordas K. Iron, Lead, and Children's Behavior and Cognition. *Annu Rev Nutr* 2010; 1-29.
- Kramer MS, Kakuma R. Optimal duration of exclusive breastfeeding. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; CD003517.

Krause A, Neitz S, Mägert HJ, Schultz A, Forssman WG, Adermann K. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters* 2000; 480: 147-150.

Krishnamurthy P, Ross DD, Nakanishi T, Bailey-Dell K, Zhou S, Mercer KE et al. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme. *J Biol Chem* 2004; 279: 24218-24225.

Kowdley KV. Alcohol intake and iron overload: Another role for hepcidin?. *Hepatology* 2007; 45: 541-543.

Lakhal S, Schödel J, Townsed AR, Pugh CW, Tatcliffe PJ, Mole DR. Regulation of type II transmembrane serine proteinase TMPRSS6 by hypoxia-inducible factors: new link between hypoxia signaling and iron homeostasis. *J Biol Chem* 2011; 286: 4090-4097.

Layrisse M, Martínez-Torres C. Food iron absorption: iron supplementation of food. *Prog Haematol* 1971; 7: 137-160.

Layrisse M, Martínez-Torres C, Leets I, Taylor P, Ramirez J. Effects of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. *J Nutr* 1984; 114: 217-223.

Lázaro A, Martín B. Alimentación del lactante sano. En: *Protocolos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición*. 2ª ed. Madrid: Ergon; 2010: 287-295.

Lebron JA, Bennet MJ, Vaughan DE, Chirino AJ, Show PM, Mintier GA et al. Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998; 93: 111-123.

Lebron JA, West AJ, Bjorkman PJ. The hemochromatosis protein HFE competes with transferrin for binding to the transferrin receptor. *J Mol Biol* 1999; 294: 239-245.

Lee GR, Herbert V. Nutritional factors in the production and function of erythrocytes. En: *Wintrobe's clinical Hematology*. 10th ed. Baltimore: William and Wilkins; 1998: 228-266.

- Lee MH, Means RT. Extremely elevated serum ferritin levels: associated diseases and clinical significance. *Am J Med* 1995; 98: 566-71.
- Lee PL, Gelbart T, West C, Halloran C, Felitti V, Beutler E. A study of genes that may modulate the expression of hereditary hemochromatosis: transferrin receptor-1, ferroportin, ceruloplasmin, ferritin light and heavy chains, iron regulatory proteins (IRP)-1 and -2, and hepcidin. *Blood Cells Mol Dis* 2001; 27: 518-529.
- Leonarduzzi G, Scavazza A, Biasi F, Chiarpotto E, Camandola S, Vogel S et al. The lipid peroxidation end product 4-hydroxyl-2, 3-nonenal up regulates transforming growth factor beta1 expression in the macrophage lineage: a link between oxidative injury and fibrosclerosis. *FASEB J* 1997; 11: 851-857.
- Levi S, Yewdall SJ, Harrison PM. Evidence of H-and L-chains have to cooperative roles in the iron uptake mechanisms of human ferritin. *Biochem J* 1992; 288: 591-596.
- Lind T, Lönnnerdal B, Stenlund H, Gamayanti IL, Ismail D, Seswandhana R et al. A community-based randomized controlled trial of iron and zinc supplementation in Indonesian infants: effects on growth and development. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:729-736.
- Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin assay index of iron. *N Engl J Med* 1974; 290: 1213-1216.
- Lozano J. Lactancia Materna. En: *Protocolos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición*. 2ª ed. Madrid: Ergon; 2010: 287-295.
- Lozoff B. Iron-deficiency anemia and infant development: effects of extended oral iron therapy. *J Pediatr* 1996; 129: 382-389.
- Lozoff B, Beard J, Connor J, Barbara F, Georgief M, Schallert T. Long-lasting neural and behavioral effects of iron deficiency in infancy. *Nutr Rev* 2006a; 64: 34-43.
- Lozoff B, Kaciroti N, Walter T. Iron deficiency in infancy: applying a physiologic framework for prediction. *Am J Clin Nutr* 2006b; 84: 1412-1421.

- Lozoff B. Iron deficiency and child development. *Food Nutr Bull* 2007; 28: 560–571.
- Lozoff B, Clark KM, Jing Y, Armony-Sivan R, Angelilli ML, Jacobson SW. Dose-response relationships between iron deficiency with or without anemia and infant social-emotional behavior. *J Pediatr* 2008; 152: 696–702.
- Lynch S. interaction with other nutrients. *Nutr Rev* 1997; 55: 102-110.
- Makgoba M, Savvidou M, Steer P. The effect of maternal characteristics and gestational diabetes on birthweight. *BJOG* 2012; 119:1091-1097.
- Makrides M, Leeson R, Gibson R, Simmer K. A randomized controlled clinical trial of increased dietary iron in breast-fed infants. *J Pediatr* 1998; 133: 559-562.
- Maldonado J, Gil M. Nutrición del lactante. En: Gil A. *Tratado de Nutrición*. 1ª ed. Madrid: Acción Médica; 2005: 277-298.
- Maldonado J, Gil M, Lara F. Nutrición del lactante. En: Gil A. *Tratado de Nutrición*. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2010: 207-226.
- Male C, Persson L, Freeman V, Guerra A, Van't Hof M, Haschke et al. Prevalence of iron deficiency in 12-mo-old infants from 11 European áreas and influence of dietary factors on iron status (Euro-Growth Study). *Acta Paediatr* 2001; 90: 492-498.
- Malyszko J, Malyszko S, Mysliwiec M. Serum prohepcidin and hepcidin in hemodialyzed patients undergoing iron therapy. *Kidney Blood Press Res* 2009; 32: 235-238.
- Mataix J, Llopis J. Minerales. En: Mataix Verdú J. *Nutrición y Alimentación Humana*. Madrid: Ed Ergon; 2002: 226-230.
- Mataix J. Nutrición y alimentación humana. II Situaciones fisiológicas y patológicas. En: Mataix J, Hernández M. 2ª ed. Madrid: Ergon; 2008: 835-858.
- McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000; 5: 299-309.

McLaren CE, Li KT, Gordeuk VR, Hasselblad V, McLaren GD. Relationship between transferrin saturation and iron stores in the African American and US Caucasian populations: analysis of data from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Blood* 2001; 98: 2345-2351.

McPherson R, Hoelscher D, Alexander M, Scanlon K, Serdula M. Dietary Assessment Methods among School-Aged Children: Validity and Reliability. *Preventive Medicine* 2000; 31: S11-S33.

Merryweather-Clarke AT, Pointon JJ, Shearman JD, Robson KJ. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *JMed Genet* 1997; 34: 275-278.

Merryweather-Clarke AT, Cadet E, Bomford A, Capron D, Viprakasit V, Miller A et al. Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 2241-2247.

Milman N, Pedersen P. Evidence that the Cys282Tyr mutation of the HFE gene originated from a population in Southern Scandinavia and spread with the Vikings. *Clin Genet* 2003; 64: 36-47.

Ministerio de Sanidad y Consumo. Encuesta Nacional de Salud 2006. <http://www.msc.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuestaIndice2006.htm> (Consultado el 19 de Mayo de 2012).

Moirand R, Lescoat G, Delamaire D, Lauvin L, Campion JP, Deugnier Y et al. Increase in glycosylated and nonglycosylated serum ferritin in chronic alcoholism and their evolution during alcohol withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 1991; 15: 963-969.

Moirand R, Mortaja AM, Loreal O, Paillard F, Brissot P, Deugnier Y. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. *Lancet* 1997; 349: 95-97.

Molina-Font J, Valenzuela, A. Lactancia natural. En: Cruz M. *Tratado de Pediatría* M. Cruz. 9ª ed. Madrid: Ergon; 2006: 647-659.

Monteagudo E, Ferrer B. Deficiencia de hierro en la infancia (II). Etiología, diagnóstico, prevención y tratamiento. *Acta Pediatr Esp* 2010; 68: 305-311.

- Moyer T, Highsmith E, Smyrk T, Gross J. Hereditary hemochromatosis: Laboratory evaluation. *Clinica Chimica Acta* 2011; 412: 1485-1492.
- Müller KF, Lorenz L, Poets CF, Westerman M, Franz AR. Hepcidin concentrations in serum and urine correlate with iron homeostasis in preterm infants. *J Pediatr* 2012; 160: 949-953.
- Mura C, Ragueneas O, F?ec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implications in mild form of hemochromatosis. *Blood* 1999; 93: 2502-2505.
- Murphy AT, Witcher DR, Luan P, Wroblewski VJ. Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Blood* 2007; 110: 1048-1054.
- National Research Council. Food and nutrition board. Recommended dietary allowances. 10<sup>a</sup> ed. Washington DC: National Academy Press; 1989.
- Narbona E, Sierra P, Contreras J. Nutrición del recién nacido a término. En: Gil A. *Tratado de Nutrición*. 1<sup>a</sup> ed. Madrid: Acción Médica; 2005: 251-272.
- Needlman R. Crecimiento y Desarrollo. El primer año. En: Behrman R, Kliegman R, Jenson H. *Nelson Tratado de Pediatría*. 17<sup>a</sup> ed. Madrid: Elsevier; 2004: 31-37.
- Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003; 101: 2461-2463.
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090-2093.
- Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, Ganz T, Camaschella C. Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Bool* 2005; 105: 1803-1806.
- Nicholson J, Pesce M. Pruebas de laboratorio: valores de referencia. En: Behrman R, Kliegman R, Jenson H. *Nelson Tratado de Pediatría*. 17<sup>a</sup> ed. Madrid: Elsevier; 2004: 2396-2427.

- O'Connell MJ, Halliwell B, Moorehouse CP, Aruoma OI, Baum H, Peters TJ. Formation of hydroxyl radicals in the presence of ferritin and haemosiderin. Is haemosiderin formation a biological protection mechanism. *Biochem J* 1986; 234: 727-731.
- Olakanmi O, Stokes JB, Pathan S, Britigan BE. Polivalent cationic metals induce the rate of transferrin-independent iron acquisition by HL-60 cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 2599-2606.
- Olivares J, Bueno M. Requerimiento nutricionales. In: Cruz M. *Tratado de Pediatría* M. Cruz. 9ª ed. Madrid: Ergon; 2006: 625-643.
- Olivares J. Anemia nutricional en la infancia. En: Bueno M, Sarrià A, Pérez J. *Nutrición en Pediatría*. 3ª ed. Madrid: Ergon; 2007: 363-371.
- Olivares, M, Arredondo M, Pizarro F. Hierro. En: Gil A. *Tratado de Nutrición*. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2010: 268-286.
- OMS. Patrón de crecimiento infantil. Curvas de percentiles de IMC de 0 a 2 años. 2006. Disponible en:  
[https://www.who.int/child\\_adolescent\\_health/topics/prevention\\_care/child/nutrition/breastfeeding/es/index.html](https://www.who.int/child_adolescent_health/topics/prevention_care/child/nutrition/breastfeeding/es/index.html) (Consultado el 8 de junio de 2012).
- Paasche M, Friis M, Voldner N, Godang K, Bollerslev J, Haugen G, et al. Fetal Growth versus Birthweight: The Role of Placenta versus Other Determinants. *PLoS One* 2012; 7: e39324.
- Pakdaman R, EI Hage Chahine JM. A mechanism for iron uptake by transferrin. *Eur J Biochem* 1996; 236: 922-931.
- Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2005; 202: 199-211.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, an urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806-7810.
- Pavón P, Parra I, Aparicio M, Arroba ML. Alimentación en el lactante sano. En: Muñoz MT, Suárez L. *Manual práctico de Nutrición en Pediatría*. 1ª ed. Madrid: Ergon; 2007: 42-60.

- Pérez G, Pregi N, Vittori D, Di Risio C, Garbossa G, Nesse A. Aluminium exposure affects transferrin-dependent and independent iron uptake by K562 cells. *Biochim Biophys Acta* 2005a; 1745: 124-130.
- Pérez G, Vittori D, Pregi N, Garbossa G, Nesse A. homeostasis del hierro, mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta Biochim Clin Latinoam* 2005b; 39: 301-314.
- Pérez-Aguilar F. Ceruloplasmina y metabolismo del hierro: sus implicaciones en la hemocromatosis, la enfermedad de Wilson y la aceruloplasminemia. *Rev Clin Esp* 2002; 202: 649-651.
- Petersen KM, Parkinson AJ, Nobmann ED, Bulkow L, Yip R, Mokdad A. Iron deficiency anemia among Alaska Natives may be due to fecal loss rather than inadequate intake. *J Nutr* 1996; 126: 2774-2783.
- Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J BiolChem* 2001; 276: 7811-7819.
- Pisacane A, De Vizia B, Valiante A, Vaccaro F, Russo M, Grillo G, et al. Iron status in breast-fed infants. *Pediatr* 1995; 127: 429-431.
- Ponka P. Cellular iron metabolism. *Kidney Int* 1999; 55: 2-11.
- Quigley JG, Yang Z, Worthington MT, Phillips JD, Sabo KM, Sabath DE et al. Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell* 2004; 118: 757-766.
- Randell EW, Parkes JG, Olivieri NF, Templeton DM. Uptake of non-transferrinbound iron by both reductive and nonreductive processes is modulated by intracellular iron. *J Biol Chem* 1994; 269: 16046-16053.
- Rehu M, Punnonen K, Ostland V, Heinonen S, Westerman M, Pulkki K, et al. Maternal serum hepcidin is low at term and independent of cord blood iron status. *Eur J Haematol* 2011; 85: 345-352.

- Roy CN, Penny DM, Feder JN, Enns CA. The hereditary hemochromatosis protein, HFE, specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 9022-9028.
- Ruiz-Bravo A, Jiménez M. Sistema inmunitario y mecanismos de inmunidad innata y adaptativa. En: Gil A. *Tratado de Nutrición*. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2010: 865-894.
- Sánchez M, Villa M, Ingelmo M, Sanz C, Bruguera M, Ascaso C et al. Population screening for hemochromatosis: a study in 5370 Spanish blood donors. *Journal of Hepatology* 2003; 38: 745-750.
- Sandberg A, Brune M, Carlson N, Hallberg L, Skoglund E, Rosander-Hulthen L. Inositol phosphates with different numbers of phosphate groups influence iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 240-246.
- Schiess S, Grote V, Scaglioni S, Luque V, et al; Introduction of Complementary Feeding in 5 European Countries. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 50: 92-98.
- Schmidt PJ, Andrews NC. The transferrin receptor modulates Hfe-dependent regulation of hepcidin expression. *Cell Met* 2008; 7: 505-214.
- Scientific advisory committee on Nutrition: Iron & Health. London, TSO, 2010.
- Shafir T, Angulo-Barroso R, Jing Y, Angelilli ML, Jacobson SW, Lozoff B. Iron deficiency and infant motor development. *Early Hum Dev* 2008; 84: 479-485.
- Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, Laftah AH, Takeuchi K, Halliday N et al. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2005; 122: 789-801.
- Siegenberg D, Baynes R, Bothwell T, Macfarlane B, Lamparelli R, Car N et al. Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 537-741.
- Solon O, Riddell TJ, Quimbo SA, Butrick E, Aylward GP, et al. Associations between cognitive function, blood lead concentration, and nutrition among children in the Central Philippines. *J Pediatr*. 2008; 152: 237-243.
- South PK, Lei X, Miller DD. Meat enhances nonheme iron absorption in pigs. *Nutr Res* 2000; 20: 1749-1759.

- Sturrock A, Alexander J, Lamb J, Craven CM, Kaplan J. Characterization of a transferrin-independent uptake system for iron in HeLa cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 3139-3145.
- Suharno D, West C, Muhila L, Karyadi D, Hautvast J. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet* 1993; 342: 1325-1328.
- Suominen P, Mottonen T, Rajamaki A, Irjala K. Single values of serum transferrin receptor and transferrin receptor ferritin index can be used to detect true and functional iron deficiency in rheumatoid arthritis patients with anemia. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1016-1020.
- Szajewska H, Rusczyński M, Chmielewska A: Effects of iron supplementation in nonanemic pregnant women, infants, and young children on the mental performance and psychomotor development of children: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 1684-1690.
- Taylor P, Martinez-Torres C, Romano E, Layrisse M. Effect of cysteine-containing peptides related during meta digestión iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1986; 43: 68-71.
- Thompson RA, Nelson CA. Development science and the media: early brain development. *Am Psychol* 2001; 56: 5-15.
- Thorisdóttir A, Thorsdóttir I, Pálsson G. Nutritional and iron status of 1-year olds following a revision in infant dietary recommendations. *Anemia* 2011; 2011: 1-9.
- Thorstensen K, Romslo Y. The transferrin receptor its diagnostic value and its potential as therapeutic target. *Scand Clin Lab Invest* 1993; 215: 113-120.
- Todorich B, Pasquini JM, Garcia CI, Paez PM, Connor JR. Oligodendrocytes and Myelination: The Role of Iron. *Glia* 2009; 57:467-478.
- Tojo R, Leis R. Crecimiento y Desarrollo. Crecimiento normal. In: Cruz M. *Tratado de Pediatría M. Cruz*. 9ª ed. Madrid: Ergon; 2006: 845-849.

- Twells L, Newhook LA. Can exclusive breastfeeding reduce the likelihood of childhood obesity in some regions of Canada?. *Can J Public Health* 2010; 101: 36-39.
- UNICEF. Progress for children: a world fit for children. Statistical review number 6. New York, UNICEF, 2007.
- Uzel C, Conrad ME. Absorption of heme iron. *Semin Hematol* 1998; 35: 27-34.
- Van Eijk HG, De Jong G. The physiology of iron, transferrin, and ferritin. *Biol Trace Element Res* 1992; 35: 13-24.
- von Kries R, Koletzko B, Sauerwald T, von Mutius E, Barnert D, Grunert V, et al. Breast feeding and obesity: cross sectional study. *BMJ* 1999; 319: 147-150.
- Vulpe CD, Kuo YM, Cowley L, Askwith C, Libina N, Gitschier J, Anderson GJ. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet* 1999; 21: 195-199.
- Wagstaff M, Worwood M, Jacobs A. Properties of human tissue isoferritins. *Biochem J* 1978; 173: 969-977.
- Waheed A, Parkkila S, Zhou XY, Tomatsu S, Tsuchihashi Z, Feder JN, et al. Hereditary hemochromatosis: Effects of C282Y and H63D mutations on association with s2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 12384-12389.
- Waheed A, Grubb JH, Zhou XY, Tomatsu S, Fleming RE, Costaldi ME et al. Regulation of transferrin-mediated iron uptake by HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 3117-3122.
- Walczyk T, Davidsson L, Rossander-Hulthen L, Hallberg L, Hurrell RF. No enhancing effect of vitamin A on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 177-179.
- West AR, Thomas C, Sadlier J, Oates PS. Haemochromatosis protein is expressed on the terminal web of enterocytes in proximal small intestine of the rat. *Histochem Cell Biol* 2006; 125: 283-292.

Whitfield JB, Zhu G, Heath AC, Powell LW, Martin NG. Effects of Alcohol Consumption on Indices of Iron Stores and of Iron Stores on Alcohol Intake Markers. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 1037-1045.

Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Iron metabolism, diagnosis and therapy of anemias. 3th ed. New York: Springer; 1996.

WHO (World Health Organization). Iron Deficiency Anaemia. Assessment, Prevention, and Control. A guide for programme managers. Genève: World Health Organization; 2001.

WHO (World Health Organization). Curvas de desarrollo infantil. Disponible en: [http://www.who.int/childgrowth/standards/chts\\_bfa\\_ninos\\_p/es/](http://www.who.int/childgrowth/standards/chts_bfa_ninos_p/es/) (Consultado el 8 de marzo de 2011).

WHO (World Health Organization). Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. WHO Global Database on Anaemia. Geneva: WHO, 2008. Disponibl en: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf)

Xiang M, Alfvén G, Blennow M, Trygg M, Zetterström R. Long-chain polyunsaturated fatty acids in human milk and brain growth during early infancy. *Acta Paediatr* 2000; 89:142-147.

Zacharski LR, Ornstein DL, Woloshin S, Schwartz LM. Association of age, sex, and race with body iron stores in adults: analysis of NHANES III data. *Am Heart J* 2000; 140: 98-104.

Ziegler E, Nelson E, Meter J. Iron status of breastfed infants is improved equally by medicinal iron and iron-fortified cereal. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90: 1-12.

**ANEXOS**



## ANEXO I. INFORMACIÓN PARA LOS PADRES Y HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

### Efecto de la suplementación con hierro sobre el sistema inmunitario y el desarrollo neuroconductual del niño

<b>1. Información sobre el estudio</b>	<b>188</b>	
1.1	Introducción	188
1.2	La importancia del hierro.	188
1.3	El propósito de este estudio	188
1.4	¿Deberíamos participar?	189
1.5	¿Qué tipo de seguimiento se realizará?	189
1.5.1	Visita 1 (durante su estancia en el hospital tras el parto)	189
1.5.2	Visita de los 6 meses.	189
1.5.3	Visita a los 12 meses	190
1.5.	Visitas anuales posteriores de seguimiento	190
1.6	Tabla 1. Resumen de Visitas y procedimientos	190
1.7	¿Qué harán los investigadores con las muestras de su bebe?	190
<b>2. Información acerca de ventajas e inconvenientes o riesgos</b>	<b>191</b>	
2.1	¿Porqué tomar un tipo de alimento enriquecido en hierro u otro?	191
2.2	¿Puede el bebé recibir tratamientos o vacunas mientras está tomando parte en el estudio?	191
2.3	¿Cuáles son las posibles desventajas y riesgos de tomar parte?	191
2.4	¿Qué pasaría si llegara a disponerse de nueva información durante el estudio?	191
2.5	¿Se mantendrá confidencial mi participación en este estudio?	191
<b>3. Información de contacto</b>	<b>192</b>	
<b>4. Consentimiento informado</b>	<b>193</b>	

## **1. Información sobre el estudio**

### **1.1 Introducción**

Se le está invitando a participar en un estudio que se está llevando a cabo en embarazadas y sus recién nacidos en el Hospital Universitari Sant Joan de Reus. En su elaboración colaboran la Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud (Universitat Rovira i Virgili), el Departamento de Psicología de la misma Universidad y el Servicio de Pediatría del Hospital.

Antes de que decida si desea participar es importante que entienda por qué se está efectuando este protocolo y qué implicaciones tiene. Tómese su tiempo para leerlo y consúltelo si lo desea. Pregúntenos si hay algo que no le queda claro o si desea más información.

### **1.2 La importancia del hierro.**

El hierro es un elemento muy importante de la nutrición. Su función es básica como componente de la hemoglobina, que es elemento imprescindible para el transporte de oxígeno a las células. Interviene en diferentes funciones que repercuten en la actividad del cerebro, como también en el funcionamiento de nuestro sistema de defensa contra las infecciones, que también está alterado en las alergias.

Por todo ello, la falta de hierro se ha relacionado tanto con alteraciones en la inmunidad como también con un menor un rendimiento intelectual.

Sin embargo tomar un exceso de hierro también puede ser perjudicial, pues este elemento activa los procesos oxidativos, que son causantes de envejecimiento de las células.

En la actualidad no está claro cual es el aporte ideal de hierro en la nutrición de la embarazada ni del niño pequeño. Y para complicar más la cosa, recientemente se han conocido algunos elementos genéticos que condicionan que la absorción y metabolismo del hierro pueda ser distintos en las diferentes personas.

### **1.3 El propósito de este estudio**

Queremos conocer mejor cómo puede influir la nutrición (especialmente el hierro) en el estado de las defensas de los bebés y en el desarrollo de sus capacidades de aprendizaje.

Para ello, después del nacimiento y durante los 6 primeros meses de vida, efectuaríamos unas visitas para registrar la alimentación recibida y valorar su estado de salud, crecimiento, sus posibles infecciones o alergias, y también, cómo se van desarrollando sus capacidades de aprendizaje. Durante ese periodo el bebé seguiría el régimen de vida habitual y la alimentación que hubieran decidido sus padres (lactancia materna o artificial), bajo las recomendaciones habituales de su pediatra. Lógicamente, si lo desearan, el personal del estudio (médicos pediatras, psicólogo/as y enfermero/as) podría también asesorar o resolver las dudas de la madre y padre.

Entre los 6 y 12 meses, si el bebé no tiene anemia, continuaríamos haciendo lo mismo pero proporcionándole una alimentación enriquecida en hierro. Esta alimentación estará

enriquecida con dos cantidades diferentes de hierro (ambas dentro de las aconsejadas por las sociedades científicas).

#### **1.4 ¿Deberíamos participar?**

Queda a su elección el decidir participar o no. Si decide no hacerlo, no tiene porqué dar ningún motivo y, desde luego, nadie se molestará por ello. Sólo cuando esté segura de saber lo suficiente acerca del estudio y de que le gustaría participar, se le pedirá que firme el formulario de consentimiento adjunto. Se les dará una copia de la hoja de información y del formulario de consentimiento informado firmado para que los guarde.

Si decidiera participar, podrá igualmente dejar de hacerlo en cualquier momento y sin dar ningún motivo. Esto no afectará a la atención que vaya a recibir su bebé si se le ha encontrado alguna enfermedad o problema y precisa hacer uso del hospital. Además, tiene derecho a requerir los resultados de los análisis que se hayan podido hacer y puede pedir que, si quedan muestras de laboratorio identificables, se destruyan.

#### **1.5 ¿Qué tipo de seguimiento se realizará?**

El seguimiento del estudio se realizará mediante visitas de salud en los dispensarios del hospital durante el primer año del bebé. Durante este periodo le podríamos telefonar para acordar el día o la hora de alguna de las visitas previstas.

Si decide participar, se le pedirá que acuda al centro para las evaluaciones descritas a continuación.

##### **1.5.1 Visita 1 (durante su estancia en el hospital tras el parto)**

Tanto la madre como el recién nacido recibirán los cuidados habituales que efectúa el hospital. Pero además:

b) Al hacer la prueba habitual de sangre del talón (que se efectúa rutinariamente a todos los bebés), extraeríamos unas gotas más (0,5 ml) para analizar un indicador del estado en hierro del bebé.

##### **1.5.2 Visita de los 6 meses.**

En ella se hará un examen de salud general y se registrarán los problemas que haya podido tener: alergias, infecciones, etc. Asimismo se registrará la alimentación que habitualmente efectúa el bebé.

En esta visita se hará una extracción de sangre para analítica al pequeño y se efectuará una prueba del desarrollo neurológico y de conducta.

La extracción para analítica servirá para conocer el estado nutricional y del sistema inmunitario. Los niños con anemia ferropénica serán tratados con suplementos farmacológicos de hierro.

**Asignación del tratamiento del estudio.** Se asignará al bebé a uno de los dos grupos de fortificación alimentaria. Cualquiera de las dos cantidades utilizadas en la fortificación de estos alimentos infantiles está dentro del rango que distintos grupos de expertos de todo el

mundo han acordado como aconsejables. Para garantizar que los resultados del estudio son fiables, la asignación a uno de los dos grupos de alimentos fortificados el aporte de hierro que recibirá el bebé se decidirá al azar en un proceso conocido como aleatorización (como al lanzar una moneda). Esto significa que el médico no será responsable de decidir dicha cantidad y ni los padres ni los médicos sabrán qué cantidades está recibiendo.

### 1.5.3 Visita a los 12 meses

En esta visita, además del examen de salud general y del registro de la alimentación y evolución del pequeño en cuanto a infecciones, alergias u otros problemas que haya podido tener, se efectuará también una extracción de sangre. En ella se analizarán los mismos parámetros que a los 6 meses. Al final de la visita se concertará el mejor momento para efectuar la prueba de desarrollo psicomotor.

En ella se analizarán los mismos parámetros que a los 6 meses en todos los niños y el análisis de los marcadores genéticos.

### 1.5.4 Visitas anuales posteriores de seguimiento

Según los resultados analizados hasta el momento, podría resultar de interés efectuar visitas de seguimiento anuales. Estas visitas serían concertadas de común acuerdo con la familia.

## 1.6 Tabla 1. Resumen de Visitas y procedimientos

	Visita 1 <sup>a</sup> (tras el parto)	Visita 6 meses 👶	Visita 12 meses 👶
Meses de vida	0	6	12
Consentimiento informado	✓		
Analítica del talón	✓		
Escala del Comportamiento Neonatal de Brazelton	✓		
Seguimiento de salud	✓	✓	✓
Revisión alergias e infecciones	✓	✓	✓
Revisión alimentación	✓	✓	✓
Revisión estimulación por el entorno	✓	✓	✓
Analítica venosa		✓	✓
Escala de Desarrollo de Bayley		✓	✓

### 1.7 ¿Qué harán los investigadores con las muestras de su bebé?

Las muestras de sangre se guardan congeladas para hacer, posteriormente, análisis bioquímicos. De las células sanguíneas se extraerá el material genético (el ADN) con el que se harán los análisis genéticos.

Parte del plasma y del ADN de su muestra se depositará congelada en el banco de muestras de nuestro centro para el análisis futuro con el mismo objetivo. Este material podrá ser compartido con otros grupos de investigación tanto de centros públicos como de empresas privadas, procedimiento que siempre se hará bajo las normas de seguridad y confidencialidad necesarias.

## **2. Información acerca de ventajas e inconvenientes o riesgos**

### **2.1 ¿Porqué tomar un tipo de alimento enriquecido en hierro u otro?**

Nadie sabe exactamente si un enriquecimiento en hierro es mejor que otro para los bebés. Al ofrecerle una alimentación enriquecida de manera distinta, aunque dentro de las aconsejadas por los máximos expertos, intentamos ver si puede existir alguna diferencia en cuanto a alergias infecciones o desarrollo.

### **2.2 ¿Puede el bebé recibir tratamientos o vacunas mientras está tomando parte en el estudio?**

Su bebé puede recibir cualquier tipo de tratamiento, o vacuna, o vitamina que su pediatra le aconseje. Únicamente debería mencionarlo en la siguiente visita. Por otra parte, no hace falta ni sería conveniente que tomara otros suplementos en hierro.

### **2.3 ¿Cuáles son las posibles desventajas y riesgos de tomar parte?**

El único riesgo conocido de participar es el que provenga de los desplazamientos que deba hacer y de las extracciones de sangre, pues siempre es posible que se produzca algún malestar al efectuarlas. Sin embargo, se tomarán todas las precauciones para evitarlo.

### **2.4 ¿Qué pasaría si llegara a disponerse de nueva información durante el estudio?**

En ocasiones durante el transcurso de un estudio clínico, llega a disponerse de nueva información acerca de lo que se está estudiando, que puede afectar a su buena disposición para participar en este estudio. Además, pueden surgir planes de nuevos análisis. Si ocurriera algo de esto, le mantendríamos informado/a sobre ello y sobre la conveniencia de continuar o no en el estudio. Si decidiera abandonarlo, el personal del estudio se encargará de todo para que su bebé continúe con la atención habitual. Si decide continuar, se le pedirá que firme un formulario de consentimiento actualizado que contenga la nueva información.

### **2.5 ¿Se mantendrá confidencial mi participación en este estudio?**

La información acerca de su bebé y familia se mantendrá confidencial hasta el grado permitido por las leyes y/o normas aplicables, sus datos del estudio no estarán disponibles públicamente. Su identidad se mantendrá confidencial incluso cuando una publicación científica recoja los resultados.

Las muestras de sangre se analizarán y almacenarán en un laboratorio y se destruirán una vez finalizado el estudio. Todas las muestras se codificarán para garantizar que la identidad de su bebé permanece confidencial.

Los datos personales serán incorporados a un fichero automatizado que ofrece un nivel de protección conforme a la legislación española "(Ley Orgánica 15/99 de Protección de Datos Personales)".

Un Comité Ético independiente ha aprobado el protocolo del estudio y esta Hoja de información y Consentimiento Informado.

**3. Información de contacto**

Dirección y el número de teléfono de su médico del estudio:

Nombre: Dra R Jiménez Feijoo y Dr J Barroso

Dirección: Hospital Universitari St Joan de Reus. Tel.: 977 310 300 ext 313

#### 4. Consentimiento informado

Título: ***Efecto de la suplementación con hierro sobre el sistema inmunitario y el desarrollo neuroconductual del niño***

Nombre del personal sanitario que le ha facilitado la información:

---

1. Confirmando que he leído y entendido la Hoja de Información (de fecha 09/03/2006, versión 1) para el estudio citado. He tenido tiempo suficiente para considerar la información y hacer consultas. He tenido la oportunidad de formular preguntas y he recibido respuestas satisfactorias.
2. Entiendo que se me está invitando a participar en un estudio de investigación. Entiendo sus ventajas y posibles inconvenientes y doy libremente mi consentimiento para participar en el estudio descrito en este formulario, en las condiciones establecidas en él.
3. Entiendo que la participación es voluntaria y puedo rehusar a participar o retirarme en cualquier momento sin dar un motivo y sin que resulte afectada la futura atención médica o derechos de mi hijo.
4. Entiendo que el personal del estudio, el Comité Ético de Investigación Clínica y cualquier autoridad competente pueda tener acceso a la historia clínica para revisar el estudio, y doy mi permiso para que estas personas tengan acceso a la historia. Todo los datos personales se tratarán de forma **ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL** según la Ley Orgánica 15/99 de Protección de Datos Personales.
5. Estoy informado de que recibiré una copia firmada de esta Hoja de Información y del Consentimiento firmado, para que la conserve.

Firme y rellene el nombre y la fecha a continuación.

***Madre o Padre:***

***Profesional que le ha facilitado la información:***

## **ANEXO II. DATOS DE CONTACTO Y DATOS RELACIONADOS CON EL EMBARAZO**

### **DATOS DE CONTACTO**

Los siguientes datos se van a utilizar para la programación de las visitas de seguimiento y tienen un carácter estrictamente confidencial:

**Nombre del bebé:** .....

**Fecha de nacimiento:** .....

**Nombre de la madre:**.....

**Nombre del padre:** .....

#### **Teléfonos de contacto:**

TELÉFONO FIJO:.....

TELÉFONO MÓVIL 1:.....

TELÉFONO MÓVIL 2:.....

OTROS (trabajo, abuelos, etc.):.....

**Dirección de correo electrónico:**.....

**Dirección de correo postal:** .....





## ANEXO III. DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS Y ANTECEDENTES FAMILIARES

### DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS

A continuación le vamos a pedir que nos indique algunos datos sobre usted y sobre su pareja que son necesarios para llevar a cabo este tipo de estudios:

#### MADRE

Nivel de estudios de la **madre**:

- Primarios incompletos
- Primarios finalizados
- Medios (FP/Bachiller)
- Superiores (Universidad)

Ocupación actual de la **madre** (anterior a la baja de embarazo o maternal):

.....

Edad: .....

#### PADRE

Nivel de estudios del **padre**:

- Primarios incompletos
- Primarios finalizados
- Medios (FP/Bachiller)
- Superiores (Universidad)

Ocupación actual del **padre**:

.....

Edad: .....

## ANTECEDENTES FAMILIARES

A continuación le vamos a pedir que nos indique algunos datos sobre usted y sobre su familia que son necesarios para llevar a cabo este tipo de estudios:

Número de hijos: 0 1 2 3

### PRIMER HIJO

Asma	Si	No		
Bronquitis	Si	No		
Alergias	Si	No		
Dermatitis atópica	Si	No		
Anemia	Si	No		
Ingresos hospitalarios	Si	No		
Escolarización correcta	Si	No		
Rendimiento escolar	Bueno	malo	regular	
Psicólogo	Si	No		
Logopeda	Si	No		

### SEGUNDO HIJO

Asma	Si	No		
Bronquitis	Si	No		
Alergias	Si	No		
Dermatitis atópica	Si	No		
Anemia	Si	No		
Ingresos hospitalarios	Si	No		
Escolarización correcta	Si	No		
Rendimiento escolar	Bueno	malo	regular	
Psicólogo	Si	No		
Logopeda	Si	No		

### TERCER HIJO

Asma	Si	No		
Bronquitis	Si	No		
Alergias	Si	No		
Dermatitis atópica	Si	No		
Anemia	Si	No		

Ingresos hospitalarios Si No  
Escolarización correcta Si No  
Rendimiento escolar Bueno malo regular  
Psicólogo Si No  
Logopeda Si No

### **PADRE**

Asma Si No  
Rinitis Si No  
Bronquitis Si No  
Alergias Si No..... Polvo, pólenes, animales, hongos, alimentos, medicamentos.  
Dermatitis atópica Si No  
Anemia Si No  
Otras enfermedades: .....  
Tratamientos:.....

### **MADRE**

Asma Si No  
Rinitis Si No  
Bronquitis Si No  
Alergias Si No..... Polvo, pólenes, animales, hongos, alimentos, medicamentos.  
Dermatitis atópica Si No  
Anemia Si No  
Otras enfermedades: .....  
Tratamientos:.....

### **AMBIENTE**

Tipo domicilio casa piso  
Animales domésticos perro gato Otros.....

### **TABACO**

Fuma alguien de la familia NO SI  
Padre Madre Otros

## ANEXO IV. DATOS ANTROPOMÉTRICOS Y DE SEGUIMIENTO DEL NIÑO

### DATOS DEL RECIÉN NACIDO

*Identificador:* \_\_\_\_\_

Peso:

Talla:

Perímetro craneal:

Alimentación en nursery: LM exclusiva LA LMixta

Ferritina sérica al nacer:

### VISITA 6 MESES

**Entrevistador:**

**Fecha:**

**Informador:** madre padre abuela otros

Pediatría Dr/a: \_\_\_\_\_ ABS \_\_\_\_\_

Alimentación desde el alta: LM tiempo:

LA

LMixta

Cuidador principal: madre padre abuela otros

**Antropometría:** Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ PC: \_\_\_\_\_

**Patología:**

Muguet cólicos regurgitaciones reflujo dermatitis atópica Otitis

Otras infecciones:

Bronquiolitis: no si VRS (+) (-)

**Hábito deposicional:** nº/día \_\_\_\_\_

**Ingreso hospitalario:** no si motivo: \_\_\_\_\_

**Eczema del pañal:** si no

**Otras infecciones que hayan requerido tratamiento:** PNFA / IVRA

**Observaciones:**

**VISITA 12 MESES**

**Entrevistador:**

**Fecha:**

**Informador:** madre padre abuela otros

**Antropometría:** Peso:\_\_\_\_\_ Talla:\_\_\_\_\_ PC:\_\_\_\_\_

**Patología:**

Muguet cólicos regurgitaciones reflujo dermatitis atópica Otitis

Otras infecciones:

Bronquiolitis: no si VRS (+) (-)

**Hábito deposicional:** nº/día \_\_\_\_\_

**Ingreso hospitalario:** no si motivo:\_\_\_\_\_

**Eczema del pañal:** si no

**Otras infecciones que hayan requerido tratamiento:** PNFA / IVRA

**Observaciones:**



## *Cuaderno del Sexto Mes*

*Nombre de la madre:*

*Nombre del niño/a:*

*Tengo cita el día:*

## INFORMACIÓN SOBRE LAS VISITAS

Estimados padres:

Una vez más, desde el equipo investigador (formado por médicos, pediatras, dietistas y psicólogos) les damos las gracias por participar en nuestro estudio. Las visitas que se efectuarán de ahora en adelante están programadas de la siguiente manera:

### **1ª Visita (6º mes):**

Alimentación: se hará un registro de todas las tomas de leche tanto si es materna como si es artificial así como también se valorará la introducción de nuevos alimentos y la frecuencia de consumo de los mismos

Vacunación: se hará un registro de todas las vacunaciones de su bebé hasta la fecha

Infecciones: se hará un registro de todas las infecciones de su bebé hasta la fecha

Exploración pediátrica: el pediatra hará una exploración de su bebé donde se incluirá, entre otros; el peso, la talla y el perímetro craneal

Exploración psicológica: el psicólogo observará el desarrollo mental, psicomotriz y conductual de su hijo

### **2ª Visita (12º mes):**

Alimentación: se hará un registro de todos las tomas de leche tanto si es materna como si es artificial así como también se valorará la introducción de nuevos alimentos y la frecuencia de consumo de los mismos

Vacunación: se hará un registro de todas las vacunaciones de su bebé hasta la fecha

Infecciones: se hará un registro de todas las infecciones de su bebé hasta la fecha

Exploración pediátrica: el pediatra hará una exploración de su bebé donde se incluirá, entre otros; el peso, la talla y el perímetro craneal

Exploración psicológica: el psicólogo observará el desarrollo mental, psicomotriz y conductual de su hijo

## CONTENIDO DEL DOSSIER

Este es el dossier que deberá rellenar de cara a la primera visita (6º mes de vida) en el cual se incluye:

- Registro de consumo de alimentos donde deberá señalar los alimentos que vaya introduciendo en la dieta de su bebé y el mes de introducción, unas preguntas sobre la alimentación de su bebé, así como las instrucciones para rellenarlo.
- Tres pruebas psicológicas que deberá rellenar la madre, y las pertinentes instrucciones para rellenarlas.

## REGISTRO DE CONSUMO DE ALIMENTOS

En la siguiente tabla deberá indicar con una cruz si su bebé toma algunos de los alimentos de los que figuran, y el mes de introducción del mismo. Anote cualquier comentario que crea importante en el apartado de observaciones.							
	NACIMIENTO	MES 1	MES 2	MES 3	MES 4	MES 5	MES 6
LACTANCIA MATERNA							
LACTANCIA ARTIFICIAL-1							
LACTANCIA ARTIFICIAL-2							
CEREALES INFANTILES (sin gluten)							
GLUTEN (Cereales, pan, galletas, etc.)							
FRUTA							
PAPILLA DE VERDURA							
CARNE (Pollo)							
CARNE (Ternero, conejo y cordero)							
PESCADO BLANCO							
PESCADO AZUL							
YEMA HUEVO							
CLARA HUEVO							
LEGUMBRES							
Observaciones:							

Conteste las siguientes preguntas relacionadas con la alimentación de su bebé:

### 1. LACTANCIA:

- a. En caso de tomar lactancia artificial, indique a continuación la marca y el tipo de leche: \_\_\_\_\_
- b. Cuántas tomas diarias hace su bebé:  
 Tomas Leche materna: \_\_\_\_\_  
 Tomas Leche artificial: \_\_\_\_\_
- c. ¿Añade usted azúcar o miel al biberón? Marque la respuesta correcta:  
 Sí, siempre                      Algunas veces                      No, nunca

### 2. CEREALES:

- a. Indique la marca y el tipo: \_\_\_\_\_
- b. Cuántas tomas diarias hace su bebé de cereales: \_\_\_\_\_
- c. ¿Añade usted azúcar o miel a los cereales? Marque la respuesta correcta:  
 Sí, siempre                      Algunas veces                      No, nunca
- d. Cuántas tomas diarias hace su bebé de cereales: \_\_\_\_\_

### 3. CONSUMO DE FRUTA:

- a. En caso de que su hijo tome fruta, indique la manera que tiene su hijo de comérsela (puede marcar varias respuestas):  
 Triturada (papilla)      Zumo      Entera      No toma fruta
- b. En caso de que tome fruta o zumo de fruta ¿Cuándo se da este consumo?  
 Siempre fuera de las comidas      Durante o después de alguna comida
- c. En caso de que tome fruta durante o después de alguna comida: ¿Toma también algún postre lácteo (Yogurt, etc.) en esa misma comida?  
 Casi siempre                      Alguna Vez                      Nunca
- d. Concretamente queremos saber si hay alguna comida **al día** en la que **consuma fruta y no consuma leche, Yogurt o postre lácteo.**  
 \* Ninguna, en todas se toma algún producto lácteo  
 \* Alguna vez consume fruta y producto lácteo  
 \* Al menos una vez al día toma fruta y producto lácteo

## CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

### INSTRUCCIONES PARA CUMPLIMENTARLO

Este cuestionario le pregunta sobre la frecuencia con la que su hijo/a consume **habitualmente** determinados alimentos.

Usted ha de apuntar **el número de veces a la semana ó al mes** que consume los alimentos enumerados en la página siguiente.

Algunos ejemplos para rellenar el cuestionario:

- Si consume el alimento **frecuentemente**, ponga en la columna de **LA SEMANA el número de veces: 1-2-3-4-5-6** (cuando es alguna vez a la semana), **7** (cuando es diariamente), **8-9-10-11....** (cuando es varias veces al día).

Piense siempre en sumar el consumo de todas las comidas del día (desayuno, comer, merendar, cenar, otras..).

Así, si toma todos los días leche para desayunar y alguna vez a la semana para cenar: 7+4=11 veces a la semana.

- Si consume el alimento con **poca frecuencia**, ponga en la columna del **MES** cuantas veces: **1- 2- 3**
- Si no lo consume **nunca ó casi nunca**, deje la casilla en blanco, sin poner nada.

Ejemplo:  
*Un niño desayuna habitualmente un biberón de leche (7 veces) con cereales infantiles (7 veces) y para cenar a veces papilla de cereales (4 veces) y a veces toma biberón de leche (3 veces). Además hace dos tomas de leche materna diarias. Este consumo se apuntaría de la siguiente manera:*

LISTADO DE ALIMENTOS	CUANTAS VECES COME...?	
	A LA SEMANA	AL MES
Leche artificial	10	
Leche materna	14	
Cereales	11	

## CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

LISTADO DE ALIMENTOS	CUANTAS VECES COME...?	
	A LA SEMANA	AL MES
Leche Materna		
Leche Artificial		
Cereales infantiles		
Galletas tipo "maría"		
Galletas con chocolate, crema, pasteles...		
Madalenas, bizcocho		
Papilla de verduras		
Plato de verdura y patata		
Patatas al horno, fritas o hervidas		
Legumbres: lentejas, garbanzos, alubias..		
Arroz blanco		
Pasta: fideos, macarrones, espaguetis...		
Huevos		
Pollo		
Termera, cerdo, cordero (bistec, empanada)		
Pescado blanco: merluza, mero...		
Pescado azul: sardinas, atún, salmón....		
Pan (bocadillos, en comidas)		
Jamón salado, dulce, embutidos		
Queso blanco o fresco (Burgos) o bajo en calorías		
Otros quesos curados o semicurados, cremosos		
Frutas cítricas: Naranja, mandarina		
Otras frutas: Manzana, pera, melocotón, albaricoque, plátano		
Zumos de fruta natural		
Zumos de fruta comercial		
Postres lácteos: natillas, flan, cuajada, yogurt		



## *Cuaderno del Doceavo Mes*

*Nombre de la madre:*

*Nombre del niño/a:*

*Tengo cita el día:*

## INFORMACIÓN SOBRE LAS VISITAS

Estimados padres:

Una vez más, desde el equipo investigador (formado por médicos, pediatras, dietistas y psicólogos) les damos las gracias por participar en nuestro estudio. Las visitas que se efectuarán de ahora en adelante están programadas de la siguiente manera:

### **1ª Visita (6º mes):**

Alimentación: se hará un registro de todas las tomas de leche tanto si es materna como si es artificial así como también se valorará la introducción de nuevos alimentos y la frecuencia de consumo de los mismos

Vacunación: se hará un registro de todas las vacunaciones de su bebé hasta la fecha

Infecciones: se hará un registro de todas las infecciones de su bebé hasta la fecha

Exploración pediátrica: el pediatra hará una exploración de su bebé donde se incluirá, entre otros; el peso, la talla y el perímetro craneal

Exploración psicológica: el psicólogo observará el desarrollo mental, psicomotriz y conductual de su hijo

### **2ª Visita (12º mes):**

Alimentación: se hará un registro de todos las tomas de leche tanto si es materna como si es artificial así como también se valorará la introducción de nuevos alimentos y la frecuencia de consumo de los mismos

Vacunación: se hará un registro de todas las vacunaciones de su bebé hasta la fecha

Infecciones: se hará un registro de todas las infecciones de su bebé hasta la fecha

Exploración pediátrica: el pediatra hará una exploración de su bebé donde se incluirá, entre otros; el peso, la talla y el perímetro craneal

Exploración psicológica: el psicólogo observará el desarrollo mental, psicomotriz y conductual de su hijo

## CONTENIDO DEL DOSSIER

Este es el dossier que deberá rellenar de cara a la primera visita (6º mes de vida) en el cual se incluye:

- Registro de consumo de alimentos donde deberá señalar los alimentos que vaya introduciendo en la dieta de su bebé y el mes de introducción, unas preguntas sobre la alimentación de su bebé, así como las instrucciones para rellenarlo.
- Tres pruebas psicológicas que deberá rellenar la madre, y las pertinentes instrucciones para rellenarlas.

## REGISTRO DE CONSUMO DE ALIMENTOS

En la siguiente tabla deberá indicar con una cruz si su bebé toma algunos de los alimentos de los que figuran, y el mes de introducción del mismo. Anote cualquier comentario que crea importante en el apartado de observaciones.

	NACIMIENTO	MES 1	MES 2	MES 3	MES 4	MES 5	MES 6
LACTANCIA MATERNA							
LACTANCIA ARTIFICIAL-1							
LACTANCIA ARTIFICIAL-2							
CEREALES INFANTILES (sin gluten)							
GLUTEN (Cereales, pan, galletas, etc.)							
FRUTA							
PAPILLA DE VERDURA							
CARNE (Pollo)							
CARNE (Ternero, conejo y cordero)							
PESCADO BLANCO							
PESCADO AZUL							
YEMA HUEVO							
CLARA HUEVO							
LEGUMBRES							
Observaciones:							

Conteste las siguientes preguntas relacionadas con la alimentación de su bebé:

### 1. LACTANCIA:

- a. En caso de tomar lactancia artificial, indique a continuación la marca y el tipo de leche: \_\_\_\_\_
- b. Cuántas tomas diarias hace su bebé:  
Tomas Leche materna: \_\_\_\_\_  
Tomas Leche artificial: \_\_\_\_\_
- c. ¿Añade usted azúcar o miel al biberón? Marque la respuesta correcta:  
Sí, siempre                      Algunas veces                      No, nunca

### 2. CEREALES:

- a. Indique la marca y el tipo: \_\_\_\_\_
- b. Cuántas tomas diarias hace su bebé de cereales: \_\_\_\_\_
- c. ¿Añade usted azúcar o miel a los cereales? Marque la respuesta correcta:  
Sí, siempre                      Algunas veces                      No, nunca
- d. Cuántas tomas diarias hace su bebé de cereales: \_\_\_\_\_

### 3. CONSUMO DE FRUTA:

- a. En caso de que su hijo tome fruta, indique la manera que tiene su hijo de comérsela (puede marcar varias respuestas):  
Triturada (papilla)                      Zumo                      Entera                      No toma fruta
- b. En caso de que tome fruta o zumo de fruta ¿Cuándo se da este consumo?  
Siempre fuera de las comidas                      Durante o después de alguna comida
- c. En caso de que tome fruta durante o después de alguna comida: ¿Toma también algún postre lácteo (Yogurt, etc.) en esa misma comida?  
Casi siempre                      Alguna Vez                      Nunca
- d. Concretamente queremos saber si hay alguna comida **al día** en la que **consuma fruta y no consuma leche, Yogurt o postre lácteo.**
  - \* Ninguna, en todas se toma algún producto lácteo
  - \* Alguna vez consume fruta y producto lácteo
  - \* Al menos una vez al día toma fruta y producto lácteo

## CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

### INSTRUCCIONES PARA CUMPLIMENTARLO

Este cuestionario le pregunta sobre la frecuencia con la que su hijo/a consume **habitualmente** determinados alimentos.

Usted ha de apuntar **el número de veces a la semana ó al mes** que consume los alimentos enumerados en la página siguiente.

Algunos ejemplos para rellenar el cuestionario:

- Si consume el alimento **frecuentemente**, ponga en la columna de **LA SEMANA el número de veces: 1-2-3-4-5-6** (cuando es alguna vez a la semana), **7** (cuando es diariamente), **8-9-10-11....** (cuando es varias veces al día).

Piense siempre en sumar el consumo de todas las comidas del día (desayuno, comer, merendar, cenar, otras..).

Así, si toma todos los días leche para desayunar y alguna vez a la semana para cenar: 7+4=11 veces a la semana.

- Si consume el alimento con **poca frecuencia**, ponga en la columna del **MES** cuantas veces: **1- 2- 3**
- Si no lo consume **nunca ó casi nunca**, deje la casilla en blanco, sin poner nada.

Ejemplo:

*Un niño desayuna habitualmente un biberón de leche (7 veces) con cereales infantiles (7 veces) y para cenar a veces papilla de cereales (4 veces) y a veces toma biberón de leche (3 veces). Además hace dos tomas de leche materna diarias. Este consumo se apuntaría de la siguiente manera:*

LISTADO DE ALIMENTOS	CUANTAS VECES COME...?	
	A LA SEMANA	AL MES
Leche artificial	10	
Leche materna	14	
Cereales	11	

## CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

LISTADO DE ALIMENTOS	CUANTAS VECES COME...?	
	A LA SEMANA	AL MES
Leche Materna		
Leche Artificial		
Cereales infantiles		
Galletas tipo "maría"		
Galletas con chocolate, crema, pasteles...		
Madalenas, bizcocho		
Papilla de verduras		
Plato de verdura y patata		
Patatas al horno, fritas o hervidas		
Legumbres: lentejas, garbanzos, alubias..		
Arroz blanco		
Pasta: fideos, macarrones, espaguetis...		
Huevos		
Pollo		
Ternera, cerdo, cordero (bistec, empanada)		
Pescado blanco: merluza, mero...		
Pescado azul: sardinas, atún, salmón....		
Pan (bocadillos, en comidas)		
Jamón salado, dulce, embutidos		
Queso blanco o fresco (Burgos) o bajo en calorías		
Otros quesos curados o semicurados, cremosos		
Frutas cítricas: Naranja, mandarina		
Otras frutas: Manzana, pera, melocotón, albaricoque, plátano		
Zumos de fruta natural		
Zumos de fruta comercial		
Postres lácteos: natillas, flan, cuajada, yogurt		

## **ANEXO X: APORTACIONES CIENTÍFICAS**

Las aportaciones científicas del trabajo realizado por el grupo de investigación son:

### **1. CONTRIBUCIONES A CONGRESOS**

Bedmar C, Ribot B, Aranda N, Jardí C, Canals J, Hernández-Martínez, Arija V. Breastfeeding and iron-supplemented infant formula: effect on anthropometric, haematological and neurobehavioural development of children. 11th European Nutrition Conference (FENS). Madrid. Ann Nutr Metab 2011; 58(Suppl.3): 389.

Participación: Póster

Bedmar C, Jardí C, Voltas N, Canals J, Arija V, Aranda N. Fortificación en hierro de leche infantil de los 6 a 12 meses y desarrollo del lactante. Ensayo clínico aleatorio. IX Congreso de la sociedad española de nutrición comunitaria (SENC). Cádiz 2012.

Participación: Comunicación Oral.

### **2. ARTÍCULOS CIENTÍFICOS EN FASE DE REDACCIÓN**

- **Bedmar C, Canals J, Aranda N, Hernández-Martínez C, Barroso JM, Voltas N, Ribot B, Jardí C, Arija V.**

BREASTFEEDING AND INFANT FORMULA: EFFECT ON INFANT DEVELOPMENT DURING THE FIRST YEAR OF LIFE.

BMC Pregnancy Childbirth

Objectives: To show the effect of breastfeeding on the anthropometric, biochemical and cognitive development of infants.

Methods: Longitudinal study on 129 healthy infants followed from birth until the year. Anthropometrical data, iron biochemical parameters and cognitive development (Bayley Scales) were measured at 6 and 12 months.

Results: At 6 months, 16,5% of infant take breastfeeding (BF), 20,3% mix breastfeeding with infant formula (IF) and 63,2% IF. At 6 months, babies fed with IF versus BF infants had higher values of hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH), and lower incidence of depleted iron stores (0% vs 15%) and anemia (6,3% vs 31,6%). At 12 months, babies fed with IF versus BF infants had higher values of Ht, Hb, MCV and MCH. BF babies had better mental development at 12 months compared to IF ( $103,84 \pm 9,08$  vs  $97,36 \pm 11,45$ ;  $p=0,009$ ).

Conclusions: The breastfeeding improves mental development at 12 months despite the decrease of the biochemical parameters of iron. We observed no differences in the anthropometry.

- **Aranda N, Bedmar C, Ferré N, Ribot B, Jimenez R, Arija V.**

SERUM HEPCIDIN LEVELS IN INFANTS AND THEIR RELATIONSHIP WITH IRON STATUS AND HFE GENE MUTATIONS

J Pediatr.

Background: Hepcidin is an emerging biomarker of iron status and there is no data in the infant population.

Objective: To determine the hepcidin levels in healthy infants at six and twelve months of life and its relationship with the iron status and with the presence of the main mutations in the gene for hereditary hemochromatosis (HFE).

Methods: Cross sectional study conducted on 129 infants followed from birth until the year. At 6 and 12 months, serum Hepcidin (by ELISA kit), Hemoglobin (Hb), Serum Ferritin (SF), Mean Corpuscular Volume (MCV) and Transferrin Saturation (TS) (serum iron and serum transferrin) were measured by standard methods. We defined iron depletion ( $SF < 12 \mu\text{g/L}$ ), iron deficiency (2 or more of the following parameters altered:  $SF < 12 \mu\text{g/L}$ ,  $MCV < 70 \text{fl}$ ,  $TS < 16\%$ ) and iron deficiency anaemia ( $Hb < 11 \text{g/dl}$  + iron deficiency). The three common variants of the hemochromatosis gene (HFE) were analysed (C282Y, H63D, S65C).

Results: The mean hepcidin levels at 6 months was 46.61 ng/ml (SD: 20.33) and at 12 months it was of 56.26 (SD: 25.83), with no differences between sexes. At 6 and 12 months we observed that subjects with an altered parameter of iron have lower hepcidin levels compared to those with normal iron status (39.57 ng/ml vs 48.77ng/ml,  $p < 0.05$  at 6 months and 46.30 ng/ml vs 59.44 ng/ml,  $p < 0.05$  at 12 months). No significant differences were observed in the hepcidin levels according to the presence or absence of the studied mutations in the HFE gene.

Conclusions: Hepcidin levels decrease in the iron deficiency states. We observed no relationship with the studied HFE gene mutations in the infants of our population.

- **Arija V, Bedmar C, Aranda N, Hernández-Martínez C, Escribano J, Canals J.**

EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF IRON ON ANTHROPOMETRIC, BIOCHEMICAL AND NEUROBEHAVIORAL DEVELOPMENT OF INFANTS: Randomized clinical trial.

J Pediatr.

Background: The prevalence of iron deficiency among children younger than 3 years is high in developed countries.

Objectives: To assess the effect of different levels of iron fortification in infant formula on the anthropometric, biochemical and cognitive development of the infants.

Methods: Randomized clinical trial on 129 infants followed from birth until the year. At 6 months, two groups were assigned according to the doses of the iron-fortified formula (0.44 and 1.16 mg Fe/100 ml formula). Sociodemographic characteristics, food, anthropometry, iron biochemical parameters and cognitive development (Bayley Scales) were assessed at 6 and 12 months.

Results: Children fed with the higher iron-fortified infant formula had larger height, lower incidence of depleted iron stores (13.2% vs. 32.1%,  $p=0.033$ ) and iron deficiency anemia (2.2% vs 12.5%;  $p=0.049$ ), and 8.733 points more in mental cognitive development score at 12 months compared to babies fed with the lower iron-fortified infant formula.

Conclusions: Infant formula fortified with the higher doses of iron at 6 to 12 months provides an improve in the iron stores, a decrease in the percentage of anemia and a better mental cognitive development.