

# ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS EN NIÑOS MALNUTRIDOS

**Gladys Rey**

• Comisión de Investigaciones Científicas Provincia de Buenos Aires

**María C. Marín**

• INIBIOLP Facultad de Ciencias Médicas de la Plata

**Luis C. Pedersoli**

• Servicio de Neurología Hospital de Niños de la Plata

**María A. Rodríguez**

• Comisión de Investigación Científica Provincia de Buenos Aires

**María T. de Alaniz**

• INIBIOLP Facultad de Ciencias Médicas de la Plata

cadena larga derivados de los EFA, si es que se desea conseguir el nivel bioquímico de los lactantes alimentados con leche materna así como una función visual normal.

## ABSTRACT

Polyunsaturated fatty acids (PUFA) derived from essential fatty acids (EFA) play an important role in perinatal visual and neural development. Protein – energy malnutrition affect PUFA supply, and hence the synthesis of structural lipids during growth.

Recently, some physiological studies report abnormalities on the visual function from formula – fed infants relative to breast – fed infants. Docosahexaenoic acid (DHA), an n-3 PUFA, is found in consistently high concentrations in the retinae of mammals, and its dietary deficiency is associated with visual abnormalities in formula – fed infants. Visual function and phospholipid fatty acid composition from red blood cells were determined in two groups of full – term malnourished infants, who received a commercially available formula containing linolenic acid as the only source of n-3 fatty acids, or a nutrient – enriched formula supplemented with DHA. A third group of full – term breast – fed malnourished infants was selected for this study. Visual function was assessed using full – field flash electroretinography and red blood cells fatty acid composition of phospholipids was determined by gas – liquid chromatography. The results demonstrated that retinal function was altered in those infants who received formula contained only linolenic acid compared to those fed enriched formulas or human milk. In phospholipid fatty acid composition it was found the highest proportion of DHA in breast – fed infants.

Enriched – formula – fed infants showed higher values than infants fed common formulas. We conclude that malnourished infants may require a dietary supply of some preformed long chain fatty acids derived from EFA if the biochemical status of breast fed infants and normal visual function are to be achieved.

## INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos esenciales (AGE) son aquellos ácidos grasos que no pueden ser sintetizados por las células de los mamíferos y por consiguiente deben ser aportados con la dieta. Hay dos AGE fundamentales, ácidos linoleico (18: 2n-6) y linolénico (18: 3n-3), que

## ABSTRACTO

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) derivados de los ácidos grasos esenciales (EFA) juegan un importante rol en el desarrollo visual y neural perinatal. La desnutrición proteico – energética afecta el aporte de los PUFÁ y, por lo tanto la síntesis de lípidos estructurales durante el crecimiento. Recientemente, algunos estudios fisiológicos reportan anomalías de la función visual en infantes alimentados con fórmula, en relación a los alimentados con lactancia materna. El ácido docosahexaenoico (DHA), un n-3 PUFA, se encuentra en concentraciones consistentemente altas en la retina de mamíferos y su deficiencia en la dieta está asociada con anomalías visuales en infantes alimentados con fórmula.

Se determinó la función visual y la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos en los hematíes de dos grupos de infantes desnutridos a término, quienes recibieron una fórmula comercialmente disponible que contenía ácido linolénico como única fuente de ácidos grasos n-3 o fórmula nutritiva enriquecida suplementada con DHA. Un tercer grupo de desnutridos a término alimentados con lactancia materna fue seleccionado para este estudio. Se evaluó la función visual empleando electroretinografía tipo flash de campo completo y la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos de los hematíes fue determinada por cromatografía de gas líquido. Los resultados demostraron que la función retinal estuvo alterada en aquellos alimentados con fórmulas enriquecidas o leche humana. Se encontró la más alta proporción de DHA en la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos en infantes alimentados con leche materna. Los lactantes alimentados con fórmula enriquecida mostraron valores más altos que los alimentados con fórmulas convencionales. Concluimos que los lactantes desnutridos pueden requerir un suplemento dietético con algunos ácidos grasos de

son precursores, mediante un mecanismo de elongación – desaturación, de otros ácidos poliétílicos de mayor número de átomos de carbono y dobles ligaduras (AGP) (Aaes – Joegense, E. EFA essentiality<sup>1,2</sup>.

Estos ácidos son componentes esenciales de lípidos estructurales de las membranas celulares, en consecuencia influyen en un número importante de funciones, incluyendo la fluidez y permeabilidad de las membranas, la actividad de los receptores y de las enzimas, y las respuestas a las excitaciones eléctricas<sup>3</sup>.

El requerimiento de AGE y sus derivados metabólicos es mayor durante el desarrollo fetal y la lactancia ante la necesidad del organismo de formar nuevas estructuras celulares debido al desarrollo acelerado de los tejidos.

La leche humana provee a los lactantes los AGE y sus derivados metabólicos (AGP), incluyendo a los ácidos araquidónico (20: 4n-6) y docosahexaenoico (22: 6n-3). La mayoría de las fórmulas comerciales utilizadas en la alimentación de los lactantes sólo proveen los AGE precursores, por ello los lactantes alimentados con ellas deben sintetizar los AGP que necesitan. Se han demostrado en lactantes alimentados con fórmulas tradicionales valores de ácidos araquidónico (AA) y docosahexaenoico (DHA) inferiores a los correspondientes a aquellos alimentados con leche materna, en plasma y eritrocitos<sup>4,5,6</sup>.

Estos ácidos cumplen funciones importantes en el desarrollo neural en el período perinatal. Los fosfolípidos de la membrana retiniana, contienen cantidades relevantes de ácido docosahexaenoico (22: 6n-3)<sup>7,8</sup>.

La deficiencia dietética de ácidos de la serie n-3 se ha asociado con alteraciones en la capacidad cognitiva, anomalías de la función visual en ratas<sup>9</sup> en primates no humanos<sup>10,11</sup> en lactantes de pretérmino<sup>12,13</sup>, y en lactantes de términos alimentados con fórmulas comerciales<sup>14</sup>.

Durante el período perinatal, el ácido araquidónico se acumula en fosfolípidos y juega un rol vital, tanto como componente de membranas como en su función de precursor de eicosanoides, y tal vez, como factor de crecimiento.

Se ha especulado que en lactantes de pretérmino, y tal vez en lactantes de término, las fórmulas comerciales comunes conteniendo sólo los AGE precursores, no sean adecuadas para cubrir las demandas incrementadas en AGP de 20 a más átomos de carbono.

Por otra parte, se ha demostrado en animales de experimentación la relación existente entre la malnutrición calórico-proteica y el metabolismo de los lípidos, particularmente de los AGE, ya que la actividad

de las enzimas desaturantes se encuentra disminuída, particularmente durante la gestación y lactancia. Esto afectaría el normal suministro de AGP, y por ello podría modificarse la estructura y función de las membranas, conduciendo daños irreversibles dada la vulnerabilidad del período de rápido crecimiento del sistema nervioso, que tiene lugar en el hombre hasta los 18 meses de vida. Hay numerosas evidencia de las alteraciones que presenta el perfil de ácidos grasos plasmáticos y eritrocitarios en lactantes malnutridos, tanto marasmáticos como kwashiorkor. La más alta concentración retiniana de DHA se encuentra en los segmentos externos de los fotorreceptores, con alto grado de fluidez de las membranas, siendo necesaria su presencia para la actividad de la rodopsina (referencias<sup>7,12,13,14,15,16,17,18y19</sup> de Birch y Kasdorf p.20) en este contexto, el empleo del electroretinograma cutáneo computado por flash (ERGcc-F) constituye un método válido para evaluar la función de los fotorreceptores retinianos (referencia<sup>1,2y3</sup> que se adjuntan).

Por consiguiente, se consideró de interés analizar incorporación de ácidos grasos a los fosfolípidos plasmáticos y eritrocitarios y estudiar la función visual, en lactantes malnutridos alimentados tanto con leche materna y como con fórmulas comerciales comunes.

## MATERIAL Y METODO

**Pacientes:** Se seleccionaron 30 lactantes nacidos a término, (38,5 A 41,5 semanas) malnutridos de ambos sexos, edad comprendidas entre 45 a 90 días, con peso de nacimiento entre 2,500 y 3,500Kg. Todos ellos pacientes ambulatorios de la Unidad de Rehabilitación Nutricional del Hospital de Niños Sor María Ludovica de La Plata. El estudio fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación del Hospital y se obtuvo el consentimiento de los padres a los que se les informó el objetivo del estudio.

**Evaluación Antropométrica:** El peso y la talla fue tabulando según las normas y técnicas antropométricas para evaluación pediátrica del crecimiento físico aprobados como estándares nacionales por la Sociedad Argentina de Pediatría.

Los lactantes presentaban malnutrición calórico-proteica según Gómez modificado y NCHS.

**Alimentación:** La muestra compuesta por 30 niños recibieron la siguiente alimentación:

10 niños desnutridos alimentados con leche de fórmula (LF) basada en leche de vaca con aceites vegetales, sin ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

10 niños desnutridos alimentados con leche de fórmula con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LPUFA) y 10 niños desnutridos alimentados con leche humana (LH).

## COMPOSICION PORCENTUAL EN ACIDOS GRASOS DE LA FORMULA APTAMIL CON MILUPAN, KASDORF

ACIDO GRASO	ACIDO HALLADO	VALOR DE CLARADO
12:0	6.81±0.49	6.63
14:0	6.36±0.23	6.57
16:0	23.99±2.50	26.28
16:1	0.75±0.5	1.09
16:2	0.21±0.04	
18.0	6.10±.57	7.45
18:1n9	35.69±2.63	28.71
18:2n9	14.14±1.00	10.85
18:3n9	0.21±0.01	
18:3n3	0.91±0.06	0.73
20:2n6	0.03±0.005	0.15
20:3n6	0.02±0.01	0.12
20:4n6	0.22±0.02	0.44
20:5n3	0.11±0.04	0.05
20:6n3	0.17±0.08	0.30

Los valores corresponden al promedio de 5 determinaciones

## Composición en ácidos grasos Tabla 1.

Acidos Grasos	Materna	Standard	C/PUFA
A.cáprico C 10:0	1,7	-	-
A.láurico C12:0	9,9	-	-
A.mirístico C 14:0	11,8	5	6,57
A.palmítico C 16:0	19,0	18	26,28
A.oleico C 18:1n9	26,2	45	28,71
A linolenico C 18:2n6	17,9	11	10,85
A alfa linolenico C:3n3	0,53	2	0,73
Relación n6-n3	14:2	5:1	14:1
A araquidónico C20:4n6	0,39	-	0,44
A. eicosapentaenoico C20:5n	0,14	-	0,05
A Docosahexaenoico C22:6 n3	0,27	-	0,3

**Toma de muestra:** Después de un periodo mayor de 35 días (rango 35 a 90) de alimentación se le extrajo a cada niño sangre mediante punción recogiendo la sangre en un tubo con anticoagulante. Las muestras se obtuvieron durante extracciones de rutina.

Se descartaron las muestras hemolizadas. Se separaron los glóbulos rojos del plasma en cetríugua Sorvall, usando un rotor SS34 a 2500 rpm durante 10 minutos. Se lavaron los glóbulos rojos con solución fisiológica. Los lípidos se extrajeron de los glóbulos rojos, por el método de Folch, empleando una mezcla de 2 partes de cloroformo y 1 parte de metanol, absoluto. Después de evaporar el solvente bajo corriente de N<sub>2</sub>, se separaron los lípidos totales en lípidos neutros y fosfolípidos por cromatografía en columna de ácido silícico. Para ello se diluyeron los lípidos neutros con cloroformo y los lípidos polares con metanol absoluto. Se esterificaron los lípidos polares con trifluoruro de boro 10% en metanol, se extrajeron los ésteres metílicos y se analizaron en su composición en ácidos grasos mediante cromatografía gas-líquido empleando un

cromatógrafo Shimadzu, equipado con una columna capilar. Las muestras se comparan con muestras patrones obtenidas de Sigma.

**Electrorretinograma Cutaneo Computado (ERG cc):**

Los pacientes se encontraron en vigilia tranquila o bajo sueño natural, sin inducir el sueño por fármacos hipnóticos.

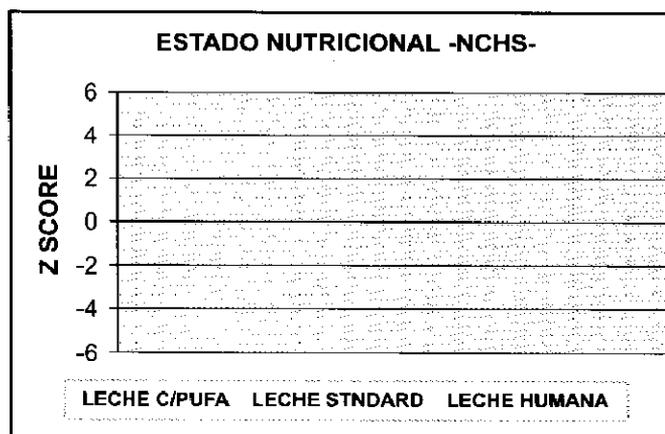
Se colocaron electrodos de superficie, mediante pasta adherente y conductora, en párpado inferior (positivo), mastoides ipsolateral (negativo) y frontal (fpz del sistema 10/20, tierra). Se utilizó un equipo para potenciales evocados Neuropac II de Nihon Kohden, estimulándose mediante flash de luz blanca (1, 2 joules) con frecuencia de 1 Hz, promediándose un total de 64 a 128 respuestas, con un tiempo de barrido de 500 ms, banda de paso de 100 Hz a 2 Hz, analizándose amplitud y latencia de las ondas producidas, en especial el tiempo de latencia de la onda b. Se considera como normales valores de hasta 50 ms, según los standards en nuestro laboratorio para este rango etáreo.

**Análisis estadístico:** los datos se procesaron por el método de Análisis de Varianza, GBSTAT Professional Statistics and Graphics 4.0 Dynamic Microsystems Inc. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de  $P > 0.05$

## RESULTADOS

Desde el análisis antropométrico presentaron un déficit de Peso/Edad 24 a 40% de déficit según los Standards Nacionales.

Según el NCHS se encontraron en un rango  $-1.31$  t  $-3.42$ , por debajo del valor Z. Los niños fueron controlados semanalmente para confirmar el tipo de alimentación.

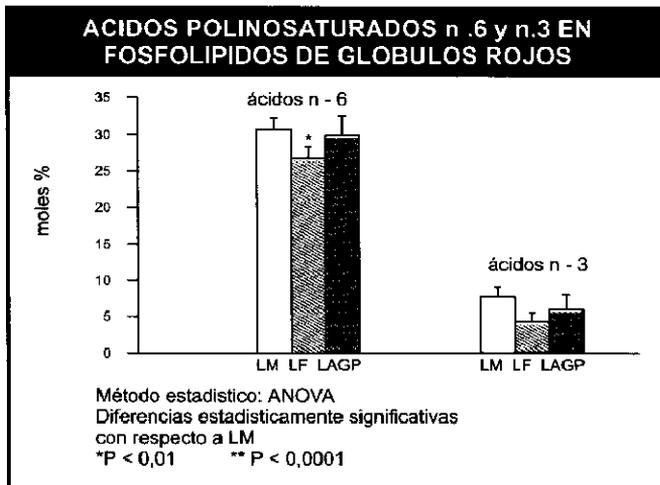


Composición en ácidos grasos de los fosfolípidos glóbulos rojos lactantes alimentados con leche materna y maternizada.

	Leche materna (n=6)	Leche maternizada con milupan (n=12)	Leche maternizada común (n=10)
12:0	1.27±0.23	0.94±0.09	1.38±0.23
14:0	0.96±0.08	0.87±0.18	1.20±0.40**
16:0	24.82±2.45	25.35±2.87	27.71±2.36*
16:1n-7	0.50±0.18	0.63±0.18	0.70±0.31
16:2n-4	0.57±0.11	0.61±0.16	0.41±0.17
17:0	0.66±0.18	0.53±0.21	0.42±0.15
18:0	17.38±1.04	18.50±3.75	19.44±4.85
18:1n-9	11.78±1.24	14.59±2.02	14.24±1.90*
18:1n-7	1.32±0.37	0.93±0.15	1.10±0.25
18:2n-6	11.18±4.22	11.59±4.65	11.94±1.75
18:3n-6	0.58±0.29	0.35±0.17	2.25±0.09
18:3n-3	1.28±0.23	0.76±0.06***	0.98±0.11**
20:0	0.39±0.01	0.32±0.07	0.47±0.28
20:1n-9	0.36±0.24	0.32±0.12	0.54±0.21
20:2n-6	0.48±0.14	0.30±0.07	0.35±0.10
20:3n-6	1.68±0.21	1.54±0.40	1.24±0.30
20:4n-6	14.04±1.03	12.81±2.24	9.97±2.35***
20:3n-3	0.48±0.14	0.48±0.07	0.51±0.14
20:5n-3	1.46±0.29	0.54±0.18****	0.63±0.17****
22:1n-9	0.10±1.01	0.30±0.13**	0.75±0.35
22:2n-6	0.38±0.10	0.32±0.01	0.38±0.08
22:4n-6	2.71±0.45	2.53±0.62	1.83±0.56**
22:5n-6	0.95±0.28	0.81±2.20	0.95±0.21
22:4n-3	1.37±0.39	1.25±0.40	0.81±0.24
22:5n-3	1.36±0.24	1.13±0.50	0.87±0.45
22:6n-3	2.66±0.87	1.86±0.45*	2.94±0.10
Σ saturados	44.10±1.39	46.51±1.42**	49.78±2.69
Σ monoetilénicos	13.97±1.41	15.87±1.02**	17.21±2.40
Σ polietilénicos	39.10±1.28	37.67±1.17*	32.98±3.70
Σ n-9	12.15±1.28	15.17±2.96***	15.44±2.01***
Σ n-9-18:1n-9	0.37±0.21	0.54±0.15	1.11±0.41***
Σ n-6	30.77±1.02	29.79±1.58	26.15±3.18**
Σ n-6-18:2n-6	20.05±1.51	18.20±1.68*	14.77±2.60****
Σ n-3	7.60±1.17	5.70±0.87**	4.10±2.72****
Σ n-3-18:3n-3	6.72±1.24	4.97±2.79**	3.11±0.79****
18:2n-6/20:1n-6	0.67±0.15	0.81±0.24	1.19±0.17****

Los resultados obtenidos muestran la influencia de la dieta en la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos totales de glóbulos rojos de lactantes malnutridos.

En glóbulos rojos de lactantes alimentados con ambas leches maternizadas se observa un menor contenido en algunos ácidos polinsaturados, tales como el 20:5n-3, 22:6n-3, en el total de ácidos n-6 y n-3; como así también en el total de estos ácidos menos el respectivo precursores (total n-6-18:2 n-6 y total n-3-18:3 n-3), con respecto a los lactantes alimentados con leche materna considerados controles. Estas diferencias son mayores aún cuando se analizan los resultados obtenidos al utilizar leches maternizadas que sólo proveen los ácidos grasos esenciales precursores, observándose una mayor disminución de los ácidos e índices anteriormente citados, como también en los ácidos 22:4n-6, 22:4n-3 y 22-5n3, y un aumento en la relación 18:2 n-6/ 20:4 n-6. Los datos de lactantes alimentados con dietas enriquecidas con ácidos poliinsaturados de manera tal de hacer su composición en ácidos grasos semejantes a la leche materna, muestran menores diferencias con respecto a los controles.

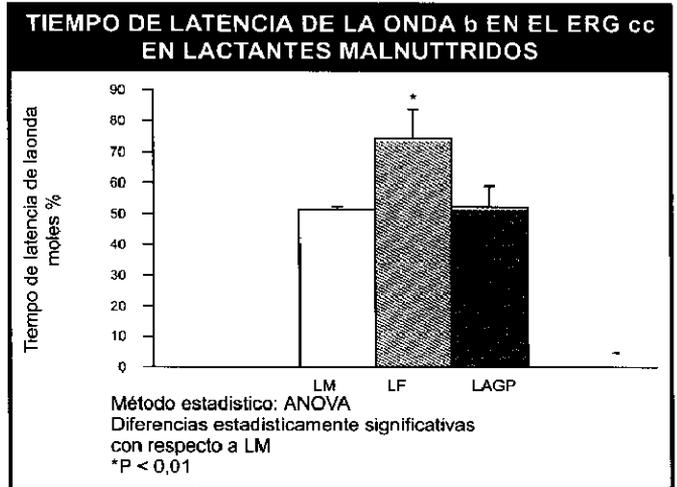


#### Electroretinograma Cutaneo Computado

Los resultados obtenidos exhiben una significativa demora del tiempo de latencia de las ondas b en el grupo 2 de manera simétrica o asimétrica en ambos ojos.

A los valores obtenidos de los tres grupos se les aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y se obtuvo diferencias altamente significativas entre el grupo de LF y LPUFA.

Ello podría depender de una alteración de la transmisión bioeléctrica a nivel de las membranas de los fotorreceptores vinculable con el déficit de aporte exógeno de DHA en este grupo.



#### CONCLUSIONES

Por lo expuesto, se puede concluir que el agregado a las leches maternizadas de ácidos polietilénicos, permite una mayor incorporación de ácidos poliinsaturados en los lípidos tisulares, de los niños desnutridos, si bien no logra restaurar totalmente el perfil de ácidos grasos propio de los lactantes alimentados con pecho materno.

Estos resultados coinciden con los encontrados en trabajos como los de Decsi y Koletzko, donde los niveles de AA y DHA de los alimentados con leche con Pufa se asemejan más a los niveles de los alimentados con leche humana.

Esto coincidiría con lo que recientemente el Comité de Nutrición de la Sociedad Europea de Pediatría y Gastroenterología y Nutrición (ESPGAN) resolvieron que las fórmulas para niños de bajo peso deben estar suplementadas con n-6 y n-3.

El ERGcc-F expresa la actividad de los fotorreceptores retinianos, de las células bipolares y de Müller y del epitelio pigmentario (referencias<sup>1,2,3</sup> que se adjuntan), en tanto que el obtenido por Pattern reversible (ERGcc-P) sería generado por las células ganglionares que dan origen al tracto óptico (referencia<sup>4</sup> que se adjunta).

En nuestro trabajo con ERGccF empleando luz blanca para la fotoestimulación, se ha valorado el tiempo de latencia al pico de la onda b por ser un parámetro estable intra e interindividual. El uso de luz blanca de un fotoestimulador intermitente determine que las respuestas retinianas así evocadas procedan esencialmente de los conos cuya función está ligada a la agudeza visual.

## BIBLIOGRAFIA

Ballabriga A, ¿Cuál es el papel de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en la nutrición infantil? Unidad de investigaciones Biomédicas. Hospital Materno Infantil Valle Hebrón Universidad Autónoma. Barcelona, España, 1993.

Carlson SE Carver JP House SG. High fat diets varying in ratios of polyunsaturated to saturated fatty acid and linoleic to linolenic acid: a comparison of rat neutral and red cell membrane phospholipids. *J. Nutr* 116:718-725. 1986

Carlson S, Philip G, Rhodes y Mítzi G, Ferguson. El estado del ácido dosahexaenoico de los lactantes prematuros al nacer y después de ser alimentados con leche humana o con fórmula. *Am. J. Clin. Nutr*, 44; 798-804 1996.

Chevalier F. Transferts et synthèse du cholestérol chez la rat au cours de la croissance *BiochimBiophys Acta* 84 316-339 1964.

Crawford M, Ingesta de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga con dieta del pretermino Valores nutricional y metabólico. Instituto de química cerebral y nutrición humana. Hospital Infantil Queen Elizabeth Londres 1993.

Cuevas - Covarrubias S, Rojo - Callejas F, Juárez - Oropeza M, Díaz - Zagoya J. Los ácidos grasos eritrocíticos de niños desnutridos energético proteico grave. *Rev - Invest - Clin. May - Jun*; 46 (3); 197 - 201. 1994

Cederholm TE, Berg - AB: Johansson - EK Hellstrom K, Palmblad J. Low leveles of essential fatty acids are related to impaired delayed akin persensitivity in malnourished chronically elederly people. *Eur-J-Clin-Invest Sep*; 24 (9); 615 - 20, 1994.

De Tomas M, Mercuri O, De Serres C, Marin M, Rodrigo M. Efecto de la administración de aceite de maíz sobre la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos del plasma de lactantes normales y desnutridos alimentados con lecho de vaca. *Medicina Buenos Aires* 54: 385 - 391, 1994.

Decsi T, and Kolestzko, Growth, fatty acid composition of plasma lipid classes, and plasma retinol and alfa tocopherol concentrations in full-term infants and formula enriched with omega 6 and omega 3 long - chain polyunsaturated fatty acids. *Actq Paediatr* 84 725 - 32, 1995.

Decsi T, and Kolestzko. Growth, fatty acid composition of plasma lipid classes, and plasma retinol and alfa tocopherol concentrations in full-term infants fed formula enriched with omega 6 and omega 3 long - chain polyunsaturated fatty acids. *Acta paediatr* 84 725-32 1995.

Decsi T, Berthold K. Polyunsaturated fatty acids in infant nutrition. *Acta Paediatr Suppl* 395 31-7 1994.

De Tomas M, Mercuri O, Rodrigo M. Effects of dietary protein and EFA deficiency on liver 5 6 9 desaturase activities in he early developing rat. *The Journal of Nutrition* Vol. 110 N 4, April 1980.

De - Lucchi C, Pita MI, Faus MJ, Periago JL, Gil A.