

LA IMPORTANCIA DE LOS INGREDIENTES FUNCIONALES EN LAS LECHES Y CEREALES INFANTILES

INTRODUCCIÓN

La importancia y el interés de los ingredientes funcionales en la alimentación se ponen hoy de manifiesto por el aumento de consumo de los muchos alimentos que los incorporan frente a los que no los contienen.

La Unión Europea, al igual que el resto de países desarrollados, ha incrementado su apoyo económico de forma considerable a los grupos de trabajo que investigan nuevos ingredientes con actividad funcional y demuestran su eficacia con estudios experimentales en animales y clínicos en humanos.

Dada la trascendencia de la alimentación para el óptimo desarrollo tanto físico como intelectual en las primeras etapas de la vida, la incorporación de nuevos ingredientes funcionales a las leches infantiles es hoy objeto de numerosos estudios, dando cada vez productos más novedosos y semejantes a la leche humana, patrón de oro, que los contiene en forma natural.

ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), y en

especial el ácido araquidónico de la serie n-6 (AA, C20:4n-6) y el ácido docosahexaenoico de la serie n-3 (DHA, C22:6n-3), tienen una gran importancia en el desarrollo infantil, ya que durante el período perinatal se acumulan en cantidades considerables en ciertos tejidos como son el sistema nervioso central, particularmente en las membranas neuronales sinápticas, y en las células fotorreceptoras de la retina(1).

El período de máxima vulnerabilidad comienza a las 32 semanas de gestación, justo cuando el desarrollo cerebral es mayor, y se extiende hasta los 2 años de vida. Durante este período los AGPI-CL se acumulan progresivamente en el sistema nervioso central, tal como evidencian los estudios post-mortem realizados en fetos y niños(1).

Durante la gestación existe una transferencia de los AGPI-CL desde la madre al feto que se realiza a través de la placenta. El análisis de la composición lipídica de sangre en cordón umbilical revela que en la última fase de la gestación las concentraciones de los ácidos grasos precursores (ácido linoleico y ácido linolénico) son relativamente bajas, mientras que la de sus derivados de

cadena larga (ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico) son elevadas, un fenómeno que se conoce con el nombre de biomagnificación. Se ha demostrado que este transporte preferente de AGPI-CL a través de la placenta se realiza por mediación de proteínas ligadoras de ácidos grasos específicas y proteínas de transferencia(2).

Tras el nacimiento y durante los primeros meses de vida, los recién nacidos en general y de forma particular los nacidos a pretérmino presentan un riesgo elevado de padecer un déficit de AGPI-CL, ya que aunque son capaces de sintetizar estos compuestos a partir de los precursores esenciales, el ácido linoleico (C18:2n-6) y el ácido linolénico (C18:3n-3), los sistemas enzimáticos todavía se encuentran inmaduros^{3,4} y el grado de síntesis no llega a ser suficiente para satisfacer las elevadas necesidades durante esta etapa.

Por ello, un aporte adecuado de AGPI-CL en estas primeras etapas de la vida es crucial para lograr un desarrollo funcional óptimo del recién nacido. Los estudios realizados en lactantes demuestran que los AGPI-CL intervienen en una gran diversidad de funciones y procesos biológicos:

- A nivel de la membrana celular, influencia sobre la fluidez de membrana, la permeabilidad para el intercambio de metabolitos, la actividad de los enzimas y receptores y la respuesta eléctrica frente a la excitación(5,7).
- Incremento de los niveles de AGPI-CL en plasma, eritrocitos y cerebro de los lactantes alimentados con leche materna o con leches infantiles suplementadas con AA y DHA en comparación con los lactantes alimentados con leches infantiles que sólo contienen los ácidos grasos esenciales linoleico y linoléico(8).
- La maduración de estructuras relacionadas con la visión y una función óptima de la retina, tal como han demostrado los estudios electroretinográficos y de agudeza visual(9).
- Un óptimo desarrollo del sistema nervioso central y neurológico, de forma que los lactantes alimentados con leches infantiles suplementadas con AGPI-CL consiguen mayores puntuaciones en los test de resolución de problemas(10,11).
- El ácido araquidónico se relaciona con el crecimiento de los niños y se ha asociado con un mayor peso al nacer(12).
- La modulación de la absorción de distintos nutrientes a nivel intestinal(13).
- Influencia en la consistencia de las heces de los lactantes(14).
- La modulación de la respuesta inmunológica en el lactante. Las fórmulas para prematuros suplementadas con AGPI-CL inducen poblaciones linfocitarias en plasma CD4/CD8 semejantes a las de los lactantes alimentados con lactancia materna(15).

La leche materna contiene cantidades significativas de ácido araquidónico (AA), el ácido graso poliinsaturado de cadena larga mayoritario de la serie n-6 y de ácido docosahexaenoico (DHA), el ácido graso poliinsaturado

de cadena larga mayoritario de la serie n-3(16,19). Estos compuestos derivan de los ácidos grasos esenciales de sus respectivas series (ácido linoleico y ácido α -linoléico). En la leche materna y las leches infantiles, no sólo es importante la cantidad global de cada ácido graso por separado sino también que exista una relación adecuada entre los niveles de los ácidos grasos esenciales y AGPI-CL de las series n-3 y n-6.

La relación ácido linoleico/ácido linoléico de la leche materna es de alrededor de 1018,(19) y los Comités de Expertos recomiendan que el cociente entre estos dos compuestos en las fórmulas para lactantes sea similar a la leche materna y evite valores extremos(20).

En el caso de los AGPI-CL, el contenido de los compuestos de la serie n-6 en los lípidos cerebrales del recién nacido es aproximadamente el doble que el de la serie n-3(21). Esta relación se mantiene en la leche materna y se considera que cubre las necesidades del recién nacido, incluso en prematuros(22), por tanto será la relación a conseguir en la formulación de las leches infantiles(21, 22).

En relación a la adición de AGPI-CL en las leches infantiles, Laboratorios Ordesa ha realizado diversos ensayos clínicos en los últimos 15 años en los que ha participado con la finalidad de conocer su biodisponibilidad y su influencia sobre el desarrollo del lactante.

Dado que la concentración de AGPI-CL en plasma y eritrocitos se correlaciona con el contenido a nivel de retina y estructuras cerebrales(23, 24), en uno de los estudios se midieron los niveles de AGPI-CL (ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico) en el plasma y membrana de los eritrocitos de recién nacidos a término sometidos a diferentes formas de lactancia. Se compararon tres grupos, uno de los cuales se alimentó con lactancia materna exclusivamente, otro con una leche de inicio no suplementada con AGPI-CL y un tercer

grupo alimentado con una leche de inicio suplementada con AGPI-CL. Las muestras se obtuvieron a los 7, 30 y 90 días del nacimiento. Los estudios demostraron que la suplementación con AGPI-CL conseguía una evolución del patrón lipídico semejante al que consiguen los niños alimentados al pecho, que no consiguen en modo alguno los lactantes alimentados con una leche de inicio no suplementada con AGPI-CL(25).

Estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores(26,29) y sugieren que durante las primeras semanas de vida los recién nacidos a término no han desarrollado totalmente la capacidad enzimática para sintetizar los AGPI-CL que necesitan a partir de sus precursores, produciéndose una disminución de los niveles eritrocitarios y plasmáticos de estos compuestos en los lactantes que ingieren leches no suplementadas.

En otro estudio más reciente, se ha evaluado la influencia de la fuente de AGPI-CL sobre la biodisponibilidad de estos nutrientes y sus efectos fisiológicos en el recién nacido. Los resultados han mostrado que tras tres meses de ingesta de la leche infantil, la administración de AGPI-CL en forma de fosfolípidos o triglicéridos no tiene ninguna influencia sobre las concentraciones plasmáticas, y que los niveles de AA y DHA en plasma dependen fundamentalmente de la composición lipídica de la leche(30).

La ESPGHAN reconoce desde 1991 la importancia de los AGPI y recomienda su adición en las fórmulas para prematuros(20). Asimismo, la adición de AA y DHA a las leches infantiles de inicio ha sido recomendada por diversos investigadores e instituciones(31-33) y hoy día un gran número de leches para prematuros y lactantes disponibles en Europa están enriquecidas en estos componentes.

B-PALMITATO

En la leche materna el ácido representa un 25% de los ácidos grasos de la leche humana y más del 70%

esta esterificado principalmente en la posición 2 (o posición beta) de la molécula del triglicérido(34, 35). La razón de esta esterificación preferencial en la glándula mamaria y sus implicaciones metabólicas no se conocen del todo. Esta especial configuración de los triglicéridos de la leche materna tiene una serie de implicaciones fisiológicas a nivel digestivo, entre las que destaca su influencia sobre la absorción y digestibilidad tanto de la fracción lipídica como del calcio y del magnesio(36).

Al contrario de lo que ocurre en la leche materna, en la que una elevada proporción de ácido palmítico se encuentra en posición β de los triglicéridos, en la mayor parte de las leches infantiles el ácido palmítico se representa en cantidades importantes en las posiciones 1 y 3 de los triglicéridos.

Durante la digestión de las grasas los ácidos grasos en posiciones 1 y 3 de los triglicéridos quedan libres a nivel del lumen intestinal, lo cual resulta desfavorable para su aprovechamiento debido a la tendencia de los ácidos grasos libres de coprecipitar con el calcio presente en el tracto digestivo, formando jabones calcícos insolubles(37, 38). Estos jabones calcícos no pueden ser absorbidos por el lactante, por lo que provocan un menor aprovechamiento tanto de la grasa como del calcio presentes en las leches infantiles. Sin embargo, cuando el ácido palmítico se encuentra en posición β , es absorbido rápidamente en forma de 2-monoglicérido (2-monopalmitina), sin formar los mencionados jabones calcícos insolubles, consiguiendo una mayor absorción de la grasa y el calcio presentes en las leches infantiles(36, 39).

En las leches infantiles, la opción de incrementar indiscriminadamente la concentración de calcio para favorecer una correcta mineralización ósea no parece ser una alternativa adecuada, ya que podría provocar una mayor formación de jabones calcícos insolubles con los ácidos grasos sa-

turados presentes en el producto(36) que precipitarían y provocarían una menor absorción tanto de la grasa como del calcio. Como alternativa, el aumento de la presencia de ácido palmítico en posición β , resulta la opción más adecuada para incrementar la biodisponibilidad del calcio y mejorar su absorción.

Al incrementar el porcentaje de ácido palmítico en posición β de las leches infantiles, se consigue una menor concentración de calcio y de ácido palmítico a nivel fecal(36), indicando una mayor absorción de estos compuestos a lo largo del tracto digestivo, e incluso se ha comprobado que el calcio absorbido es depositado a nivel esquelético, ya que los lactantes alimentados con leches enriquecidas en β -palmitato presentan una mayor densidad ósea(36, 40).

Además de tener implicaciones nutricionales, el contenido de ácido palmítico de las leches infantiles también tiene influencia sobre la consistencia de las heces de los lactantes(40). Los jabones calcícos parecen ser responsables de la dureza de las heces por lo que, a mayor concentración de β -palmitato, menor formación de jabones calcícos y deposiciones más suaves y más parecidas a las de los lactantes alimentados con leche materna.

La efectividad de la suplementación de las leches infantiles con β -palmitato se ha valorado en un ensayo clínico en el que se estudiaron las pérdidas fecales de ácidos grasos, calcio y magnesio en recién nacidos a término alimentados con lactancia materna o con dos leches infantiles con diferentes proporciones de ácido palmítico en posición β (una de ellas con un contenido de β -palmitato estándar similar al resto de leches de infantiles del mercado y la otra con un contenido lipídico especialmente enriquecido en β -palmitato)(41).

Los resultados de este estudio demostraron que, tras un período de 2 meses, los niveles fecales de ácido palmítico y de ácidos grasos totales en las heces del grupo alimentado con

una leche enriquecida en β -palmitato fueron significativamente inferiores a los del grupo que se alimentó con una leche infantil estándar(41).

Este hecho demuestra una mayor absorción intestinal de la fracción lipídica en general y de ácido palmítico en particular en el grupo de lactantes alimentados con una leche infantil enriquecida en β -palmitato, respecto a los lactantes alimentados con una leche infantil estándar.

En referencia a los niveles de calcio y magnesio en heces, la concentración de calcio fecal en los grupos de lactancia materna y leche enriquecida en β -palmitato disminuyó, aunque la disminución no llegó a ser estadísticamente significativa(41).

Así pues, la leche enriquecida en β -palmitato muestra claras ventajas nutricionales ya que se incrementa la absorción total de grasa (especialmente de β -palmitato) y la de calcio y magnesio, demostrando una mayor biodisponibilidad de estos compuestos. Por otro lado, favoreció la reducción en la formación de jabones calcícos, por lo que se considera un producto de interés en la prevención de la aparición del estreñimiento en los lactantes.

En otro estudio realizado se determinó la eficacia clínica de una fórmula infantil enriquecida en β -palmitato en el tratamiento del estreñimiento de los lactantes. En el estudio se incluyeron 45 lactantes a los que se administró una fórmula enriquecida con un 49% de β -palmitato durante 14 días. A tiempo cero y a los 7 y 14 días de ingesta de la fórmula se realizó la valoración de la frecuencia y consistencia de las deposiciones, así como de los síntomas asociados. El estudio demostró que tras 2 semanas de ingesta de la fórmula infantil en el grupo tratado con la nueva fórmula el porcentaje de lactantes que presentaba 1-2 deposiciones al día era muy superior que en el grupo control ($p < 0,001$), así como el porcentaje de lactantes con una consistencia suave o formada de las heces ($p < 0,001$).

En general el estudio demostró que un 80% de los lactantes que tomó la fórmula enriquecida con β -palmitato presentó una mejora de la sintomatología asociada al estreñimiento, mientras que en el grupo control sólo un 21% de los lactantes notó una mejora de los síntomas(42).

NUCLEÓTIDOS

Los nucleótidos son componentes intracelulares de bajo peso molecular, constituidos por una base nitrogenada en anillo (purina o pirimidina), una pentosa y uno o varios grupos fosfatados en unión éster(43).

Estas moléculas, además de formar las unidades monoméricas precursoras de los ácidos nucleicos ADN y ARN, son fundamentales en el metabolismo intermediario (ATP), formando parte de coenzimas (CoA) en la cadena respiratoria (NAD, FMN) e interviniendo como mensajeros en la respuesta celular (AMP, GMP)(44).

Estos nutrientes son considerados semi-esenciales en ciertas situaciones cuando su síntesis endógena es insuficiente para cubrir las necesidades del organismo, tal como sucede en:

- la prematuridad,
- en el retraso de crecimiento fetal,
- en afecciones intestinales y,
- en situaciones de ingestas de nutrientes limitada(45).

Puesto que la síntesis de novo y la recuperación de los nucleótidos son procesos metabólicos muy costosos (una replicación del DNA necesita por lo menos 109 moléculas de nucleótidos), un aporte exógeno de nucleótidos en la dieta puede optimizar la función de los tejidos de división rápida, especialmente el epitelio intestinal y las células del sistema inmune(46).

Asimismo, en la alimentación del recién nacido, la suplementación con nucleótidos ejerce un papel beneficioso sobre la maduración del sistema inmunitario, el crecimiento y desarrollo del intestino delgado, el metabolismo lipídico, las funciones hepáticas y la recuperación ponderal en prematuros y recién nacidos de bajo peso.

Efectos fisiológicos de los nucleótidos en el lactante

a) Modulación de la respuesta inmune

Las investigaciones sobre los efectos inmunológicos de la adición de nucleótidos a la alimentación de los lactantes demuestran que estos componentes tienen una clara influencia en la función inmunitaria, ejerciendo una estimulación tanto a nivel humoral como celular(47).

Estimulación de la inmunidad humoral. Las respuestas de anticuerpos tras vacunación en lactantes alimentados con una fórmula fortificada con nucleótidos muestran títulos de anticuerpos más elevados frente a Haemophilus influenza tipo B y difteria respecto a los lactantes que recibieron una fórmula convencional(48).

Los lactantes pretérminos alimentados con una fórmula suplementada con nucleótidos exhiben unos niveles plasmáticos de IgM e IgA superiores a los lactantes alimentados con fórmulas sin nucleótidos(49).

En la alimentación de lactantes prematuros, la suplementación con nucleótidos induce concentraciones séricas de anticuerpos IgG contra la β -lactoglobulina superiores, lo que ha sido interpretado como una maduración del sistema inmune humoral(50).

Estimulación de la inmunidad celular. Se ha comunicado un aumento de la actividad de las células natural killer, de la activación de los macrófagos y de la producción de interleukina-2 en lactantes alimentados al pecho o en los que recibían leches suplementadas con nucleótidos, en relación con los que habían sido alimentados con leches no enriquecidas(47).

b) Efectos gastrointestinales

Diversos estudios realizados en lactantes demuestran que la suplementación con nucleótidos reduce la duración de diarrea(44), disminuye el estreñimiento, meteorismo y regurgitaciones(51) y tiene un efecto beneficioso sobre la flora fecal(52).

c) Efectos sobre los lípidos plasmáticos

En los recién nacidos, se ha demostrado que la administración de nucleótidos produce un aumento de los niveles plasmáticos de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga(53). Asimismo, posee otros efectos sobre el metabolismo lipídico, como por ejemplo la influencia sobre la síntesis de proteínas(54) y la reducción de los niveles plasmáticos de las VLDL y aumento de las HDL(55).

d) Efectos sobre el crecimiento

Los nucleótidos influyen positivamente sobre el catch-up (recuperación ponderal) acelerado en prematuros y recién nacidos de bajo peso para la edad de gestación(56). En un ensayo clínico, realizado por nuestro equipo en el Hospital Clínico Universitario de Granada en el que se evaluaron los efectos sobre el peso y la talla de una leche suplementada con nucleótidos, respecto a lactantes alimentados con diferentes fórmulas lácteas no adicionadas con nucleótidos, se encontró que los valores medios de peso y talla fueron significativamente superiores a los del grupo de lactantes alimentados con leches no suplementadas con nucleótidos(57).

La leche humana tiene una alta concentración de nucleótidos, mientras que en la leche de vaca, materia prima con la que se elaboran la mayoría de las fórmulas infantiles, se encuentran prácticamente ausentes. Como consecuencia de las evidencias experimentales y clínicas del papel beneficioso que los nucleótidos de la dieta ejercen sobre el metabolismo y el sistema inmune del recién nacido, la Comisión de las Comunidades Europeas publicó el 28-2-1996 la Directiva 96/4/CE en la que se especifica que clase de nucleótidos y en qué proporciones se pueden añadir a los fórmulas para lactantes y fórmulas de continuación, determinando también el nivel de concentración de los mismos(58).

Los nucleótidos que la Directiva de la Unión Europea (posteriormente traspuesta a nivel nacional en la Reglamentación Técnico-Sanitaria referente a los preparados de inicio y preparados de continuación)(59) aprueba son: citidina 5'-monofosfato (máximo 2,50 mg/100 kcal), uridina 5'-monofosfato (máximo 1,75 mg/100 kcal), adenosina 5'-monofosfato (máximo 1,50 mg/100 kcal), guanosina 5'-monofosfato (máximo 0,50 mg/100 kcal) e inosina 5'-monofosfato (máximo 1,00 mg/100 kcal).

PREBIÓTICOS

La microbiota intestinal del neonato es un ecosistema complejo compuesto por más de 400 especies distintas, que poseen diversas funciones de tipo nutritivo, metabólico, inmunológico y protector las cuales tienen una gran influencia no sólo sobre la salud del colon, sino también a nivel sistémico. La instauración de la flora intestinal en el lactante tras el nacimiento es un proceso complejo en el que intervienen factores internos y externos tales como factores ambientales, el tipo de parto, la flora intestinal materna o el tipo de alimentación del lactante.

Desde hace varias décadas se conocen las diferencias en la composición de la flora intestinal entre lactantes alimentados al pecho y aquellos alimentados con leches infantiles. En general, los recién nacidos alimentados con leche materna presentan una flora con predominio de bifidobacterias, mientras que en los alimentados con fórmula las bifidobacterias coexisten en igual proporción con otras especies bacterianas(60).

Entre los componentes presentes en la leche materna que contribuyen al predominio de bifidobacterias en la flora intestinal de los lactantes alimentados al pecho se encuentran los oligosacáridos y otros carbohidratos no digeribles. Hoy por hoy en la leche materna se han identificado más de 130 oligosacáridos, los cuales contienen lactosa y además están constitui-

dos al menos por alguno de los 5 siguientes residuos de monosacáridos: ácido siálico, N-acetil-glucosamina, fructosa, glucosa y galactosa. Los oligosacáridos promueven el crecimiento de bifidobacterias Gram positivas en el tracto gastrointestinal, particularmente de *Bifidobacterium bifidum*, lo que inhibe la multiplicación de microorganismos patógenos tales como *Escherichia coli* y *Shigella*(61) y mejora la salud del tracto gastrointestinal.

Se han identificado diversos tipos de funciones de los oligosacáridos presentes en la leche materna, entre las que se encuentran:

a) De tipo inmunológico: estimulación del crecimiento y proliferación de bifidobacterias e inhibición de agentes patógenos.

b) De tipo digestivo: regulan el tránsito intestinal gracias al aumento del volumen de bolo digestivo.

c) De tipo nutritivo: mejoran la asimilación de minerales como el calcio y el magnesio(62).

El efecto de los oligosacáridos sobre el sistema inmune puede llevarse a cabo mediante un mecanismo directo o indirecto. En el primer caso, los oligosacáridos actúan como análogos de los receptores intestinales (ya que las bacterias enteropatógenas y sus toxinas utilizan la porción oligosacárida de las glicoproteínas como diana para su adhesión). El mecanismo indirecto se basa en que los oligosacáridos pueden servir como sustrato alimenticio de los componentes de la flora intestinal y contribuir así a la reducción del pH intestinal que ayuda a inhibir el crecimiento de algunos patógenos gastrointestinales(61).

Los prebióticos se definen como ingredientes fermentables pero no digeribles, tipo carbohidratos u oligosacáridos, que promueven selectivamente el crecimiento y la actividad de las especies bacterianas que se consideran beneficiosas para el organismo, principalmente las bifidobacterias(62). Para que un compuesto tenga acción prebiótica debe cumplir

fundamentalmente los siguientes requisitos: debe llegar al colon sin modificarse, tal como ocurre con la fibra alimentaria, y debe ser utilizado como sustrato alimenticio que estimula la flora bacteriana saprófita existente, obteniéndose efectos beneficiosos para el huésped.

El origen de los oligosacáridos prebióticos utilizados en alimentación puede ser lácteo (galactooligosacáridos) o vegetal (fructooligosacáridos e inulina). Al igual que la leche materna, los galactooligosacáridos contienen una elevada proporción de galactosa. Consisten en cadenas de galactosa con un residuo de glucosa en uno de los extremos de la cadena, siendo la longitud total de 2 a 7 monómeros. Los distintos monómeros se unen mediante enlaces (1-4) y (1-6).

Los fructooligosacáridos son cadenas formadas por unidades de fructosa unidas mediante enlaces (2-1) que contienen un residuo de glucosa en uno de los extremos. La longitud de las cadenas oscila entre 2 a 7 monómeros. Sus beneficios para la salud y su seguridad han sido demostrados en numerosos estudios clínicos(63). En ellos se ha demostrado que los oligosacáridos prebióticos son capaces de incrementar los recuentos de bifidobacterias intestinales, así como causar la reducción de ciertas bacterias patógenas(62, 64).

PROBIÓTICOS

Además de la ingesta de oligosacáridos prebióticos, otra de las estrategias para modular la microflora intestinal de lactante, estimular el crecimiento de bifidobacterias e inhibir otras especies potencialmente patógenas es la administración oral de especies de microorganismos seleccionadas.

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que se ingieren con el fin de obtener un efecto beneficioso independiente de su valor nutritivo intrínseco(65), obteniéndose una mejoría del balance microbiano intestinal. Los componentes más frecuentes de los elementos probióticos son bacterias

láticas del tipo lactobacilos o bifidobacterias (Tabla I). La adición de probióticos a las leches infantiles se ha llevado a cabo durante muchos años con fines tecnológicos, y más recientemente con el fin de promover la salud del lactante evitar la entrada de posibles microorganismos patógenos.

TABLA I – EJEMPLOS DE PROBIOTICOS EMPLEADOS CON MAYOR FRECUENCIA PARA LA SUPLEMENTACIÓN DE ALIMENTOS
Lactobacilos L. casei rhamnosus L. acidophilus L. caseii L. bulgaricus L. plantarum L. reuteri
Bifidobacterias B. infantis B. bifidum B. longum B. breve B. animalis
Otros microorganismos gram positivos Streptococcus salivarius subsp. thermophilus S. intermedius

Los criterios para considerar que un probiótico pueda ser utilizado como suplemento en la alimentación se presentan en la Tabla II.

TABLA II – CARACTERISTICAS QUE DEBE CUMPLIR UN PROBIOTICO PARA LA SUPLEMENTACIÓN DE ALIMENTOS
La cepa debe ser preferentemente de origen humano.
Estabilidad a ácidos y sales biliares, para garantizar la supervivencia en el tracto gastrointestinal. Estabilidad frente a enzimas proteolíticas.
Capacidad de adherencia a las superficies epiteliales.
Capacidad de colonización del tracto gastrointestinal humano.
Capacidad para producir componentes antimicrobianos.
Antagonismo frente a bacterias patógenas.
Efecto beneficioso sobre la salud, clínicamente demostrado.
Deben permanecer vivas y estables durante el procesado y almacenamiento de los alimentos.
Seguridad demostrada en alimentos y en uso clínico.
Buenas propiedades organolépticas.

Recientemente, el Comité Científico de Alimentación de la Comisión Europea(66) ha evaluado favo-

rablemente la adición de probióticos en leches infantiles de continuación, siempre que su beneficio y seguridad hayan sido evaluados por estudios clínicos controlados y a doble ciego. Los principales usos de los probióticos en clínica y alimentación infantil son:

- Prevenición y tratamiento de las diarreas infecciosas.
- Modulación del sistema inmune.
- Tratamiento de la intolerancia a la lactosa.
- Síntesis o producción de subproductos metabólicos con acción protectora intestinal.
- Promoción endógena de ciertos mecanismos protectores para la dermatitis atópica y la alergia a alimentos.

Uso de probióticos en la prevención y tratamiento de diarreas infecciosas

En relación al efecto preventivo y terapéutico contra la diarrea, se ha demostrado que los probióticos actúan equilibrando la flora intestinal y evitando la invasión intestinal por patógenos. Estudios realizados en niños con gastroenteritis por rotavirus han encontrado una reducción significativa de la duración de la diarrea cuando se consumen determinados productos lácteos ricos en probióticos como las *Bifidobacterium bifidum* y los *Streptococcus thermophilus*. El mismo efecto ha sido demostrado cuando los probióticos son administrados en una solución de rehidratación oral.

Otros estudios con *Lactobacillus casei rhamnosus* han demostrado que la administración de este microorganismo reduce la intensidad y la duración de la diarrea, así como una disminución del tiempo de recuperación en un grupo de niños con diarrea controlados a nivel extrahospitalario(67). Asimismo, se ha observado un efecto beneficioso en la utilización del *Bifidobacterium infantis* en diarreas provocadas por rotavirus o por otros gérmenes(68).

Modulación del sistema inmunológico

El papel inmunoestimulante de los probióticos se ha demostrado a través de diversos estudios que han observado un aumento en la respuesta inmunológica frente a los rotavirus en niños tras la administración de *Lactobacillus casei rhamnosus* GG, así como una menor incidencia de diarreas secundarias a tratamientos antibióticos en niños afectados de infecciones respiratorias, y en los cuales se coadyuvó la terapéutica profiláctica con este mismo probiótico(69). Asimismo, diversos estudios han demostrado un efecto beneficioso tras la administración de probióticos a pacientes adultos que presentaban diarrea secundaria al uso de antibióticos para su patología de base.

La suplementación dietética con ciertos probióticos también posee un efecto inmunomodulador al producir un aumento de la actividad fagocítica de monocitos y granulocitos y un incremento en los niveles de secreción de anticuerpos in situ. Asimismo, se reduce la colonización nasal por bacterias patógenas, reconociéndose la conexión entre las regiones linfáticas de las vías respiratorias superiores y el tubo digestivo(69). La demostración de que la microflora intestinal contribuye a la formación de linfocitos T helper que favorecen la tolerancia a los diferentes alimentos y sus componentes puede abrir nuevas perspectivas preventivas y terapéuticas en las patologías alérgicas a alimentos. Incluso se ha detectado una menor incidencia de alergias a la leche de vaca en los lactantes que recibieron un probiótico como el *Lactobacillus casei rhamnosus* GG67, así como en niños atópicos que recibieron el suplemento combinado de *Lactobacillus casei rhamnosus* y *Lactobacillus reuteri*, en los que se demostró la disminución de su atopia (tanto en pruebas cutáneas como en niveles séricos de IgE)(67).

Mejora de la intolerancia a la lactosa

También se ha observado que alivian los síntomas de la intolerancia a la lactosa ya que las bacterias del ácido láctico del yogur incrementan la actividad de la lactasa en el intestino delgado(67) y por lo tanto se mejora tanto la absorción de los hidratos de carbono disacáridos como la digestibilidad global de los nutrientes.

Acción protectora intestinal

Se ha demostrado la eficacia del *Bifidobacterium infantis* en la reducción de la morbilidad y mortalidad en recién nacidos con enterocolitis necrotizante, así como su efecto antimicrobiano contra el *Clostridium difficile*(67).

CARNITINA

La carnitina es un compuesto nitrogenado de gran importancia en alimentación infantil. La principal función de la carnitina es facilitar el transporte de los ácidos carboxílicos que han sido activados a nivel del coenzima A a través de la membrana mitocondrial, liberando sustratos para oxidación y eliminando compuestos tóxicos(70).

La cantidad de carnitina sintetizada por el lactante puede no ser suficiente para cubrir las necesidades de los prematuros recién nacidos de bajo peso e incluso de los recién nacidos a término, y se hace necesario un aporte exógeno mediante la alimentación para cubrir los requerimientos de este compuesto durante los primeros meses de vida.

La carnitina se ve involucrada en una larga lista de procesos metabólicos como son los descritos a continuación:

1. Control del aumento de carbohidratos sintetizados por el organismo a partir de las proteínas.
2. Metabolismo proteico (inhibición de aminoácidos específicos). Se le atribuye un papel en la inhibición de la proteólisis muscular; en estrecha relación con el metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada(71, 72).

3. Disminución del colesterol y de los triglicéridos del plasma(73, 74), debido principalmente a la inhibición de la actividad de la HMG-CoA reductasa, enzima que regula la síntesis endógena del colesterol(75).

4. Contractibilidad miocárdica.

La carnitina también parece influir en el desarrollo y maduración de las estructuras cerebrales. La importancia de la carnitina en el desarrollo cerebral se debe a los procesos metabólicos en que se ve involucrada, entre los que se encuentran el transporte de mensajes intercelulares en las células cerebrales, la síntesis de mielina(76) y la obtención de energía a nivel de las células cerebrales(77, 78).

Aunque en los mamíferos la glucosa se considera la principal fuente energética de las estructuras cerebrales, diversos estudios han puesto de manifiesto que el cerebro también puede utilizar cuerpos cetónicos para esta función(79). También se ha demostrado la existencia a nivel de las células cerebrales de los enzimas necesarios para el transporte de ácidos grasos al interior de la mitocondria a través de la carnitina(77, 78). Esta situación es especialmente importante en el cerebro en desarrollo, en el que la β -oxidación puede llegar a representar el 25% de la producción de energía(80).

Algunos estudios demuestran que lactantes en cuya alimentación existe un aporte limitado de carnitina presentan niveles bajos de esta molécula tanto en plasma como en tejidos, pudiéndose desarrollar alteraciones en la oxidación de los ácidos grasos, en el metabolismo de compuestos acetil CoA, en la cetogénesis y en el balance nitrogenado.

En los lactantes, las concentraciones plasmáticas de carnitina sufren un marcado descenso poco después del nacimiento que parece ser debido a diversos factores que acaecen aislada o concomitantemente(81, 82):

1. Interrupción brusca del transporte placentario materno-fetal de carnitina y ésteres de carnitina.

2. Interrupción brusca del transporte transplacentario de los aminoácidos esenciales, lisina y metionina, precursores de la síntesis endógena de carnitina.

3. Aumento de la utilización metabólica de carnitina al verse modificados los sustratos energéticos en el paso de la vida intrauterina (hidratos de carbono, fundamentalmente) a la extrauterina (ácidos grasos, fundamentalmente).

4. Inmadurez enzimática (gamma-butirotetrahidro-betaína-hidroxilasa) para la síntesis endógena de carnitina, respecto a la actividad enzimática mostrada en otras edades de la vida.

5. Déficit de aportes exógenos de carnitina y también de lisina y metionina debido al ayuno temprano del período neonatal inmediato precoz.

Después del nacimiento se produce un rápido incremento de la actividad del sistema carnitina aciltransferasa y de la oxidación de ácidos grasos en hígado, corazón y grasa. Este hecho produce un aumento de los niveles plasmáticos de cuerpos cetónicos hacia el segundo día de vida, que son oxidados, particularmente en el tejido cerebral donde supone un sustrato alternativo a la glucosa(77, 78).

La leche humana contiene aproximadamente $9,2\mu\text{mol}/100\text{ kcal}$ de carnitina (los márgenes encontrados son de 5,6 a $14,6\mu\text{mol}/100\text{ kcal}$)(83). En las leches para lactantes y de continuación, considerando las especiales necesidades de los recién nacidos y la diferente biodisponibilidad de los nutrientes entre la leche materna y las leches infantiles, es necesario estudiar la concentración de carnitina a añadir para cubrir las necesidades de los lactantes de pocos meses de vida.

Durante los últimos 12 años, una de nuestras líneas de investigación ha sido los niveles de carnitina en la leche materna y las leches infantiles. En diversos estudios realizados, se analizaron las interrelaciones entre los niveles plasmáticos de carnitina libre, ésteres de carnitina de corta

y larga cadena y carnitina total y las concentraciones de aminoácidos de cadena ramificada.

La importancia de este fenómeno se basa en que los cetoácidos formados a partir de los aminoácidos de cadena ramificada pueden utilizarse como fuente energética en tejidos periféricos en situaciones de estrés metabólico, mediante un proceso estimulado por la carnitina(84). Un déficit de carnitina puede ocasionar un enlentecimiento del catabolismo de los cetoácidos de cadena ramificada, afectando el mecanismo de transaminación y los ciclos “alanina-glucosa” y “glutamina-glucosa”(84).

Determinaciones llevadas a cabo demostraron que en el recién nacido los aumentos de esterificación de ácidos grasos libres a carnitina se asocian a incrementos proporcionales de la suma de las concentraciones de aminoácidos de cadena ramificada en suero. Así pues, la carnitina puede favorecer la utilización de ácidos grasos e inhibir la proteólisis muscular y la utilización de aminoácidos esenciales neoglucogénicos (valina, leucina e isoleucina) para la obtención de energía(71, 85).

Otra de las líneas de investigación desarrolladas ha sido el estudio de la influencia de la carnitina sobre el metabolismo lipídico, en concreto en el análisis de los efectos de la suplementación con carnitina en recién nacidos a término sobre el metabolismo del colesterol y su distribución lipoproteica. Los ensayos demostraron que los lactantes alimentados con una leche de inicio suplementada con L-carnitina presentan un menor riesgo aterogénico que los que reciben la misma fórmula sin suplementar, dado que las concentraciones plasmáticas de colesterol total fueron significativamente más bajas y tenían un menor

porcentaje de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

Otro de los efectos encontrados fue que la suplementación con L-carnitina favoreció el aclaramiento plasmático de lípidos(86, 87).

La ESPGHAN recomienda desde 1991 que las fórmulas para lactantes y las fórmulas para recién nacidos de bajo peso contengan L-carnitina en concentraciones al menos similares a las de la leche materna(20).

TAURINA

La taurina es el aminoácido más abundante en el cerebro humano durante el período fetal y los primeros meses de vida(88).

Como aminoácido libre, la taurina se encuentra en determinados órganos en cantidades importantes. Su presencia es especialmente relevante en tejidos excitables, en células que originan sustancias oxidantes y en aquellos órganos donde se generan gran cantidad de productos tóxicos (como es el caso de la cloramina, de conocida capacidad oxidante)(89, 90), alcanzando concentraciones especialmente elevadas en el sistema nervioso central (mayores aún en los recién nacidos y durante los primeros meses de vida), en la retina y en los granulocitos(90, 91).

Diversos estudios han puesto de manifiesto la función de la taurina como molécula osmorreguladora, tanto en tejidos cerebrales como extracerebrales(92) por lo que se considera que elevadas concentraciones de taurina en el cerebro, como las observadas en lactantes alimentados al pecho, podrían proteger al sistema nervioso de los efectos adversos, debidos tanto a la hipo como a la hiperosmolaridad(90, 91).

Debido a que en el recién nacido se

ha demostrado que existe una escasa actividad hepática de las enzimas cistationasa y descarboxilasa, que son imprescindibles en el metabolismo de los aminoácidos sulfurados, cuyo producto final es la taurina(93), parece imprescindible un aporte exógeno de este aminoácido mediante la alimentación con leche materna, la leche de mujer aporta la cantidad adecuada de taurina para cubrir las necesidades del recién nacido. Dado que en la leche de vaca las concentraciones de taurina son prácticamente nulas, en los lactantes alimentados con leches infantiles es necesario la suplementación con este aminoácido para evitar situaciones carenciales.

CONCLUSIONES

Hoy día las leches infantiles tienen perfectamente resuelta la vertiente nutricional, de forma que no existen diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de los lactantes alimentados con fórmulas infantiles con el de los lactantes alimentados con leche materna. En la última década, sin embargo, los grandes avances en la composición de leches infantiles se han producido en el área de los ingredientes funcionales, tales como los AGPICL, β -palmitato, nucleótidos, compuestos con efecto prebióticos, probióticos, carnitina y taurina, los cuales poseen una sólida base científica que avala sus efectos beneficiosos para el lactante. En el futuro, éste será un área de gran desarrollo, que contribuirá a tener productos cada vez más similares a la leche materna, no sólo desde el punto de vista nutricional, sino también funcional.

M. Rivero Urgel - Gerente Técnico;
A. Santamaría Orleáns - Jefe Formación e Información;
M.ª Rodríguez-Palmero Seuma - Técnico I+D+I.
Laboratorios Ordesa. Sant Boi de Llobregat. España.

REFERENCIAS

1. Martínez Regúlez M: Lípidos y desarrollo cerebral: importancia del ácido docosahexanoico (DHA) en el niño sano y en el enfermo con síndrome de Zellweger. *Pediatr* 2002, 22:275-288.
2. Dutta-Roy AK: Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta. *Am J Clin Nutr* 2000, 71:315S-322S.
3. Morgan C, Davies L, Corcoran F, Stammers J, Colley J, Spencer SA y cols.: Fatty acid balance studies in term infants fed formula milk containing long-chain polyunsaturated fatty acids. *Acta Paediatr* 1998, 87:136-142.
4. Demmelmair H, Feldl F, Horvath I, Niederland T, Ruzinko V, Raeders-

- torff D, De Min C, Muggli R, Koletzko B: Influence of formulas with borage oil or borage oil plus fish oil on the arachidonic acid status in premature infants. *Lipids* 2001, 36(6):555-566.
5. Ballabriga A: Essential fatty acids and human tissue composition. An overview. *Acta Paediatr* 1994, 402:63S-68S.
6. Clandinin MT, Jumpson J, Miyoung S: Relationship between fatty acid accretion, membrane composition and biologic function. *J Pediatr* 1994, 125:25S-32S.
7. Prisco D, Filippini M, Francalanci I, Paniccio R, Gensini GF, Abbate

- R y cols.: Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid intake on phospholipid fatty acid composition in plasma and erythrocytes. *Am J Clin Nutr* 1996, 63:925-932.
8. Makrides M, Neumann MA, Byard RW, Simmer K, Gibson RA: Fatty acid composition of brain, retina and erythrocytes in breast — and formula — fed infants. *Am J Clin Nutr* 1994, 60:189-94.
9. San Giovanni JP, Parra CS, Colditz GA, Berkey CS, Dwyer JT: Meta-analysis of dietary essential fatty acids and longchain polyunsaturated fatty acids as they relate to visual resolution acuity in healthy preterm

infants. *Pediatrics* 2000, 105:1292-8.

10. Willats P, Forsyth J, DiMudugno MK, Varma S, Colvin M: Effect of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant formula on problem solving at 10 months of age. *Lancet* 1999, 352:688-691.

11. Birch EE, Garfield S, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG: A randomized controlled trial of early dietary supply of longchain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Dev Med Child Neurol* 2000, 42(3):174-181.

12. Innis SM, Adamkin DH, Hall RT, Kalhan SC, Lair C, Lim M, Stevens DC, Twist PF, Diersen-Schade DA, Harris CL, Merkel KL, Hansen JW: Docosahexaenoic acid and arachidonic acid enhance growth with no adverse effects in preterm infants fed formula. *J Pediatr* 2002, 140:547-554.

13. Alessandri JM, Guesnet TS, Durant G: Changes in fatty acid composition during cell differentiation in the small intestine of suckling piglets. *Biochem Biophys Acta* 1991, 1086:340-348.

14. Forsyth JS, Varma S, Colvin M: A randomised controlled study of the effect of long chain polyunsaturated fatty acid supplementation on stool hardness during formula feeding. *Arch Dis Child* 1999, 81:253-256.

15. Field C, Thomson C, Van Aerde J, Parrott A, Euler A, Lien E y cols.: The effect of supplementing preterm formula with long-chained unsaturated fatty acids on immune phenotypes and cytokine production. *ESPGHAN-NASPGN 5th Joint Meeting. J P G N* 1998, 26(5):590.

16. De la Presa S, López-Sabater MC, Rivero-Urgell M: Fatty acid composition of human milk in Spain. *J Pediatr Gastr Nutr* 1996, 22:180-185.

17. Domínguez F, Santana C, Reyes D, Quinteiro S, Calvo J: Análisis de la concentración de ácidos grasos en calostro y leche de transición. *An Esp Pediatr* 1997, 46:455-459.

18. Koletzko B, Thiel I, Abiodun PO: The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *J Pediatr* 1992, 120:625-705.

19. Koletzko B, Mroczek N, Bremer HJ: Fatty acid composition of mature human milk in Germany. *Am J Clin Nutr* 1988, 47:954-959.

20. ESPGHAN: Committee on Nutrition. Comment on the content and composition of lipids in infant formulas. *Acta Paediatr Scand* 1991, 80:887-896.

21. Makrides M, Simmer K, Neumann M, Gibson R: Change in the polyunsaturated fatty acids of breast milk from mothers of full-term infants over 30 wk of lactation. *Am J Clin Nutr* 1995, 61:1231-1233.

22. Clandinin MT, Chappell JE, Van Aerden JEE: Requirements of newborn infants for long chain polyunsaturated fatty acids. *Acta Paediatr Scand* 1989, 78:635-715.

23. Makrides M, Simmer K, Goggin M, Gibson RA: Erythrocyte docosahexaenoic acid correlated with the visual response of healthy term infants. *Pediatr Res* 1993, 33(4):425-427.

24. Uauy RD, Hoffman DR: Essential fatty acid requirements for normal eye and brain development. *Semin Perinatol* 1991, 15:449-455.

25. Bondia-Martínez E, López-Sabater MC, Castellote-Bargallo AI, Rodríguez-Palmero M, González-Corbella MJ, Rivero-Urgell M y cols.: Fatty acid composition of plasma and erythrocytes in term infants fed human milk and formulae with and without docosahexaenoic and arachidonic acids from egg yolk lecithin. *Eur Human Dev* 1998, 53:1093-1199.

26. Carlson SE, Ford AJ, Werkman SH, Peeples JM, Koo WVK: Visual acuity and fatty acid status of term infants fed human milk and formulae with and without docosahexaenoic and arachidonate from egg yolk lecithin. *Pediatr Res* 1996, 39:882-888.

27. Jørgensen MH, Hermell O, Lund P, Holmer G, Michaelsen KF: Visual acuity and erythrocyte docosahexaenoic acid status in breast-fed and formula-fed term infants during the first four months of life. *Lipids* 1996, 31:99-105.

28. Agostini C, Riva E, Bellù R, Trojan S, Luotti D, Giovannini M: Effects of diet on the lipid and fatty acid status of full-term infants at 4 months. *J Am Coll Nutr* 1994, 13(6):658-664.

29. Agostini C, Trojan S, Bellù R, Riva E, Giovannini M: Neurodevelopmental quotient of healthy infants at 4 months and feeding practice: the role of long-chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatr Res* 1995, 38:262-266.

30. Sala-Vila A, Castellote AI, Campoy C, Rivero M, Rodríguez-Palmero M, López-Sabater MC: The source of long-chain PUFA in formula supplements does not affect the fatty acid composition of plasma lipids fractions in term infants. *J Nutr* 2004, 134:868-873.

31. Koletzko B, Agostini C, Carlson SE, Clandinin T y cols.: Long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Paediatr* 2001, 90:460-464.

32. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization): Lipids in early development. IN: Fats and oils in human nutrition. Report of a Joint Expert Consultation FAO/WHO, Roma, pp. 49-55.

33. ISSFAL Board Statement: Recommendations for the Essential Fatty Acid Requirement for Infant Formulas, June 1994.

34. Martin JC, Bougnoux P, Antoine JM, Lanson M y Couet C: Triacylglycerol structure of human colostrum and mature milk. *Lipids* 1993, 28(7):637-643.

35. López-López A, López-Sabater MC, Campoy-Folgoso C, Rivero-Urgell M, Castellote-Bargallo AI: Fatty acid and sn-2 fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and in infant formulas. *Eur J Clin Nutr* 2002, 56:1242-1254.

36. Carnielli VP, Luijckendijk IHT, Van Goudoever JB, Sulker EJ, Boerlage AA, Degenhart HJ, Sauer PJJ: Feeding premature newborn infants palmitic acid in amounts and stereoisomeric position similar to that of human milk:

effects on fat and mineral balance. *Am J Clin Nutr* 1995, 61:1037-1042.

37. Hermell O, Bläckberg L: Molecular aspects of fat digestion in the newborn. *Acta Paediatr* 1994, (Supl.)405:65-69.

38. Jensen RG, Ferris AM, Lammi-Keefe CJ: Lipids in human milk and infant formulas. *Ann Rev Nutr* 1992, 12:417-441.

39. Lien EL, Boyle FG, Yuhas R, Tomarelli RM, Quinlan P: The effect of triglyceride positional distribution of fatty acid absorption in rats. *J Pediatr Gastr Nutr* 1997, 25:167-174.

40. Kennedy K, Fewtrell MS, Morley R, Abbott R, Quinlan PT, Bindels JG y cols.: Double-blind, randomized trial of a synthetic triacylglyceridol in formula-fed term infants: effects on stool biochemistry, stool characteristics and bone mineralization. *Am J Clin Nutr* 1999, 70:920-927.

41. López-López A, Castellote-Bargallo AI, Campoy-Folgoso C, Rivero-Urgell M, Tormo-Carrice R, Infante-Pina D, López-Sabater MC: The influence of dietary palmitic acid triacylglyceride position on the fatty acid, calcium and magnesium contents of at term newborn faeces. *Early Human Dev* 2001, 65:83-94.

42. Miró FX, Santamaría A, Soriano V, Massaguer X, Prandi F y Rivero M: Efectividad del -palmitato en la mejora del estreñimiento de los lactantes. XV Congreso Nacional de la Sociedad de Pediatría Extrahospitalaria de la AEP, 18-21 octubre 2001.

43. Tormo R: Alimentación perinatal: conocimientos actuales. *Pediatría* 1999, 1:7S-13S.

44. Lama RA, Gil-Alberdi B: Efecto de la suplementación dietética con nucleótidos sobre la diarrea en el lactante sano. *An Esp Pediatr* 1998, 48:371-375.

45. Yu YV: The role of dietary nucleotides in neonatal and infant nutrition. *Singapore Med J* 1998, 39:145-150.

46. Uauy R, Stringel G, Thomas R, Quan R: Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in rat. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990, 10:497-503.

47. Carver J: Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. *J Nutr* 1994, 124:144S-148S.

48. Pickering LK, Granoff DM, Erikson JR, Masor LM, Cordle CT, Schaller JP y cols.: Modulation of the immune system by human milk and infant formula containing nucleotides. *Pediatrics* 1998, 101:242-249.

49. Navarro J, Maldonado J, Narbona E, Ruiz-Bravo A, García Salmero JL y cols.: Influence of dietary nucleotides on plasma immunoglobulin levels and lymphocyte subsets of preterm infants. *Biofactors* 1999, 10:67-76.

50. Martínez-Augustín O, Boza JY, Del Pino JI, Lucena J, Martínez-Valverde A, Gil A: Dietary nucleotides might influence the humoral immune response against cow's milk proteins in preterm neonates. *Biol Neonate* 1997, 71:215-223.

51. Álvaro G: Evaluation of the effect of a new milk formula with added nucleotides on some gastrointestinal functions. Results of a nation-wide study of 5,009 infants. *Pediatric Study group. Minerva Pediatr* 1998, 50:347-358.

52. Gil A, Corral E, Martínez A, Molina JA: Effects of the addition of nucleotides to an adapted milk formula on the microbial pattern of faeces in at-term newborn infants. *J Clin Gastroenterol Nutr* 1996, 1:127-132.

53. Pita ML, Fernández MR, DeLucchi C, Medina A, Martínez-Valverde A, Uauy R y cols.: Changes in the fatty acids pattern of the red blood cell phospholipids induced by type of milk, dietary nucleotide supplementation, and postnatal age in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988, 7:740-747.

54. Sánchez-Pozo A, Morillas J, Molto L, Robles R, Gil A: Dietary nucleotides influence lipoprotein metabolism in newborn infants. *Pediatr Res* 1994, 35:112-116.

55. Morillas J, Molto L, Robles R, Gil A, Sánchez-Pozo A: Lipoprotein changes in small-for-gestational-age infants fed nucleotidesupplemented milk formula. *Acta Paediatr* 1994, 83:481-485.

56. Cosgrove M, Davies DP, Jenkins HR: Nucleotide supplementation and the growth of small of gestational age infants. *Arch Dis Child Neonatal* 1996, 74:F122-125.

57. Rivero-Urgell M, Santamaría-Orleans A, Campoy-Folgoso C, Bayés-García R: Efecto en el peso y la talla de una leche infantil con ingredientes funcionales (Abstract). 6.º Congreso Nacional de Nutricionistas. Chile, 4-6 mayo 2000.

58. Directiva 91/321/EEC, de 14 de mayo, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación.

59. Real Decreto 72/1998, de 23 de enero, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y preparados de continuación.

60. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V: Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr* 2003, (Supl.)441:48-55.

61. Kunz C, Rodríguez-Palmero M, Koletzko B, Jensen R: Nutritional and biochemical properties of human milk, part I. *Clin Perinatol* 1999, 26:307-333.

62. Gibson GR, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995, 125:1401-1412.

63. Aggett PJ, Agostoni C, Axelsson I, Edwards CA y cols.: Nondigestible carbohydrates in the diets of infants and young children: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*

2003, 36:329-337.

64. Van Loo J, Cummings J, Delzenne N, Englyst H, Franck A, Hopkins M, Kok N, Macfarlane G, Newton D, Quigley M, Roberfroid M, Van Vliet T, Van den Heuvel E: Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project. *British Journal of Nutrition* 1999, 81:121-132.

65. Collins MD, Gibson GR: Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999, 69(Supl.):1052S-1057S.

66. Scientific Committee on Food: Report of the Scientific Committee on Food on the Revision of Essential Requirements of Infant Formulae and Follow-on Formulae (SCF/CS/NUT/HF/65 Final). European Commission, 18 May 2003.

67. Drisko JA, Giles CK, Bischoff BJ: Probiotics in health maintenance and disease prevention. *Altern Med Res* 2003, 8:143-155.

68. Lee MC, Lin LH, Hung KL, Wu HY: Oral bacterial therapy promotes recovery from acute diarrhea in children. *Acta Paediatr Taiwan* 2001, 42:301-305.

69. Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S: Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001, 73S:444S-450S.

70. Azor E: Recién nacido hijo de madre diabética: adaptación metabólico-energética al estrés del parto y al ayuno temprano del período neonatal inmediato precoz. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Granada, 1993.

71. Campoy C, Pedrosa T, Rivero M, Bayes R: Papel de la carnitina en la inhibición de la proteólisis muscular en el período neonatal. XXI Reunión Anual de la Asociación Española de Pediatría. Barcelona, 1-4 junio 1994.

72. Heinonen OJ, Takala J: Moderate carnitine depletion and long chain fatty acid oxidation exercise capacity and nitrogen balance in the rat. *Pediatr Res* 1994, 36:288-92.

73. Daynandan A, Kumar P, Kaalasilvit T, Panneerselvam C: Effects of L-carnitine on blood lipid composition in atherosclerotic rats. *J Clin Biochem Nutr* 1994, 17:81-87.

74. Shimura S, Hasegawa T: Changes of lipid concentrations in liver and serum by administration of carnitine added diets in rats. *J Vet Med Sci* 1993, 55(5):845-847.

75. Koper JW, Lopes-Carvalho M, VanGolg LMG: Preferential utilization of ketone bodies for the synthesis of myelin cholesterol. *Biochim Biophys Acta* 1981, 666:411-417.

76. Bremer J: Carnitine in intermediary metabolism: the biosynthesis of palmitoylcarnitine by cell subfraction. *J Biol Chem* 1963, 238:2774-2779.

77. Breslin N, Freddo L, Vergani L: Carnitine acyltransferase and rat brain function. *Exp Neurol* 1982, 78:285-292.

78. Page MA, Williamson DH: Enzymes of ketone-body utilization in human brain. *Lancet* 1971, 10:66-68.

79. Edmond J, Auestad N, Robbins R, Bergtrom JD: Ketone body metabolism in the neonate: development and effect of diet. *Fed Proc* 1985, 44:2359-2364.

80. Mondola P, Santillo M, De Mercato R, Santangelo F: The effect of L-carnitine on cholesterol metabolism in rat (*Rattus bubalus*) hepatocyte cells. *Int J Biochem* 1992, 24(7):1047-1050.

81. Reboeuch CJ, Paulson DJ: Carnitine metabolism and functions in humans. *Ann Rev Nutr* 1986, 6:41-66.

82. Giovannini N, Agostoni C, Salari PC: Is Carnitine essential in children? *J Int Med Res* 1991, 19:88-102.

83. Penn D, Dolderer M, Schmidt-Sommerfeld E: Carnitine concentrations in the milk of different species and infant formulas. *Biol Neonate* 1987, 52(2):70-79.

84. Ji LL, Miller FJ, Nagle HA, Lardy HA, Stratman FW: Amino acid metabolism during exercise in train rats. The potential role of carnitine in the metabolic fate of branched-chain amino acids. *Metabolism* 1987, 36:748-752.

85. Bayes R, Campoy C, Pedrosa T, Rivero M, Molina-Font JA: Carnitine and its amino precursors in term and preterm newborn infants. 14th European Congress of Perinatal Medicine, June 5-8, 1994. Helsinki, Finland.

86. Liemlahi S, Campoy C, Rivero M, López C, Bayés R: Carnitine esters: markers of "carnitine insufficiency" in the preterm and term neonates. XVIII ESPEN Congress, Geneva, Switzerland, 8-11 september 1996.

87. Campoy C, Goicoechea A, Rivero M, Bayes R: Carnitine metabolites in new-born infants after intrapartum acute acidosis. International Conference on Highly unsaturated fatty acids in nutrition and disease prevention. Barcelona, Spain, 4-6 november, 1996.

88. Sturman JA, Chesney RW: Taurine in pediatric nutrition. *Ped Clin North Am* 1995, 42(4):879-897.

89. Chesley RW: New functions for an old molecule. *Pediatr Res* 1987, 22:755-759.

90. Gaull GE: Taurine in pediatric nutrition: review and update. *Pediatrics* 1989, 83:433-442.

91. Sturman JA: Taurine in development. *J Nutr* 1988, 118:169-176.

92. Trachtman H, Del Pizzo R, Sturman JA, Huxtable RJ, Finberg L: Taurine and osmoregulation. Part II. Administration of taurine analogues affords cerebral osmoprotection during chronic hypernatremic dehydration. *Am J Dis Child* 1988, 142:1194-1198.

93. Gaull GE: Taurine in the nutrition of the human infant. *Acta Paediatr Scand* 1982, 269(Supl.):38-40.