



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE LA HEPCIDINA, FERROPENIA, INFECCIONES Y CITOCINAS INFLAMATORIAS EN LACTANTES

Rosa María Jiménez Feijoo

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.

“Análisis de la relación entre la hepcidina, anemia, infecciones y citocinas inflamatorias en el lactante”

TESIS DOCTORAL

Rosa Jiménez Feijoo

Universidad Rovira i Virgili,

Reus. 2016



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Memoria presentada

Para optar al título de Doctor en medicina

Trabajo realizado bajo la dirección de:

M. Anunciación Martín–Mateos

Profesora titular de Pediatría. Hospital St. Joan De Deu-Clinic. Universidad de Barcelona

Joaquín Escribano Subías

Profesor titular de Pediatría. Universidad Rovira i Virgili. Hospital Universitario S. Joan de Reus



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT
DEPARTAMENT DE MEDICINA I CIRURGIA

Carrer Sant Llorenç, 21
43201 Reus
Tel. 977 759 306
Fax. 977 759 352

Yo, María Anunciación Martín Mateos, Profesora Titular de Pediatría de la Universidad de Barcelona HAGO CONSTAR que el presente trabajo, titulado “Análisis de la relación entre la hepcidina, anemia, infecciones y citocinas inflamatorias en el lactante” que presenta la licenciada en Medicina y Cirugía **Rosa Jiménez Feijoo**, para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Radiología y Medicina Física y Anatomía.

En Barcelona, a 2 de Febrero de 2016

Firmado

Profesora MA Martín mateos.



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT
DEPARTAMENT DE MEDICINA I CIRURGIA

Carrer Sant Llorenç, 21
43201 Reus
Tel. 977 759 306
Fax. 977 759 352

Joaquín Escribano Subías, Profesor Titular de Pediatría de la Universidad Rovira i Virgili de Reus (Tarragona) y Director del Proyecto de Investigación que configura la Tesis Doctoral titulada: "Análisis de la relación entre hepcidina, anemia, infecciones y citocinas inflamatorias en lactantes" de la licenciada en Medicina y Cirugía **Rosa Jiménez Feijoo**,

Certifica que:

Rosa Jiménez Feijoo ha trabajado bajo mi dirección en el proyecto que constituirá su tesis Doctoral, cumpliendo dicho proyecto todos los requisitos de un trabajo de investigación original, por lo que puede ser presentado como para su defensa como Tesis Doctoral.

En Reus, 14 de febrero de 2016

Firmado

Profesor Joaquín Escribano Subías.

"Hoy es el día más hermoso de nuestra vida, querido Sancho.
Los obstáculos más grandes: nuestras propias indecisiones;
Nuestro enemigo más fuerte: el miedo al poderoso y a nosotros mismos;
La cosa más fácil: equivocarnos;
La más destructiva: la mentira y el egoísmo;
La peor derrota: el desaliento;
Los defectos más peligrosos: la soberbia y el rencor;
Las sensaciones más gratas: la buena conciencia,
El esfuerzo para ser mejores sin ser perfectos,
y sobre todo, la disposición para hacer el bien
y combatir la injusticia donde quiera que esté."

MIGUEL DE CERVANTES
(Don Quijote de la Mancha)

A mi familia

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mis directores de tesis su apoyo incondicional y su empeño en este trabajo.

A la Dra. Martín- Mateos, agradecerle su paciencia, dedicación y cariño. Gracias por su confianza en mí, y su estímulo y motivación constante. Gracias por su amor a la docencia y su entrega personal y disposición total siempre.

Al Dr. Escribano, gracias por contagiarme su amor a la pediatría y su buen hacer. Gracias por su entusiasmo por la investigación, y porque aprender a su lado ha sido siempre divertido y estimulante.

A los dos, gracias por ser profesores brillantes, y excelentes personas, por ejercer una enseñanza de la que deja huella, y sobre todo gracias por estar a mi lado en momentos claves personales y profesionales.

Gracias a mis compañeros de pediatría, Josep María Barroso y Susana Larrosa, por su excelente trabajo en este proyecto y por los buenos ratos compartidos durante el trabajo de campo.

Gracias a Natalia Ferre, por su trabajo en el laboratorio y por su paciencia con mis idas y venidas.

Gracias al equipo de la Dra. Victoria Arija, por la oportunidad de llevar a cabo este proyecto, especialmente a Carmen Hernández, por su ayuda en el reclutamiento de las familias.

Gracias a los laboratorios Ordesa, por su colaboración a este trabajo, aportando las distintas fórmulas adaptadas y cereales fortificados para su entrega a las familias participantes.

Y gracias, especialmente, a todas las familias que han colaborado en este proyecto, y sin las cuales este trabajo no hubiese sido posible.

A título personal, gracias a mi hija Anna, que llego a mi vida al mismo tiempo que iniciaba esta tesis, y que cambio todo en mi vida. Gracias por enseñarme lo que es el amor puro, y lo esencial de la vida.

A mis hijos Yago y Manuel, por su alegría, ternura y amor, y por mostrarme que todo es posible si lo deseas.

Gracias a Chema, por su apoyo y tenacidad, y por la familia que hemos construido, y como no, por su asesoramiento con la estadística.

Gracias a mi Madre, por su amor y entrega incondicional a toda la familia. Gracias a mi Padre, por haberme enseñado la importancia de la familia.

Gracias a mis hermanos José Eloy, Ana y Carlos, por estar siempre a mi lado cuando los necesito, y especialmente a mi hermano Luis, al que siempre he estado muy unida, que tanto me ha querido, y al que echo mucho de menos cada día.

Gracias a Marta, que es para mi, una hermana, gracias por estar siempre a mi lado, por tu entrega total y tu amor infinito.

Gracias a todos mis compañeros de la Unidad de Inmunoalergia del Hospital Sant Joan de Déu, que me han apoyado y dado su cariño. Especialmente, a Carmina, Olga, Jaime, Angie y Silvia, por su amistad, y sus ánimos continuos. A Ana María, por su confianza, y por su estímulo para finalizar este proyecto, y a Maite Giner por su apoyo incondicional.

Gracias a todos.

RESUMEN.

Introducción. Existe evidencia científica de la asociación entre procesos inflamatorios e infecciosos y la anemia en niños. La mayoría de estudios en este sentido han estudiado la relación en pacientes hospitalizados y con infecciones graves, generalmente bacterianas. Fueron Reeves y colaboradores quienes identificaron por primera vez, que infecciones leves también causaban anemia (Reeves JD, 1984). Demostraron que sujetos con una o varias infecciones recientes, en el término de tres meses, tenían menores niveles de hierro y hemoglobina, y mayores niveles de ferritina sérica respecto a los pacientes sin procesos infecciosos. Recientemente, se ha demostrado en población adulta una marcada influencia del sistema inmunitario en la anemia de las enfermedades crónicas o inflamatorias. En este sentido, la hepcidina se considera una pieza moduladora clave en la respuesta inflamatoria con influencia sobre el metabolismo del hierro. Así, la hepcidina aumenta ante el estímulo de citocinas inflamatoria (INF- γ , IL-6, IL-1 y TNF- α), comportándose como un mediador de la inmunidad innata. De tal manera que, ante un estímulo inflamatorio, se produce una redistribución del hierro en el organismo, pasando el hierro de la circulación a los órganos de depósito, limitando de esta manera su utilización por los microorganismos (Weiss, 2009). El secuestro de hierro en el organismo da lugar a anemia inflamatoria (Nemeth et al., 2004). Cabe destacar que, mientras en población adulta el mecanismo etiopatogénico de la anemia inflamatoria ha sido ampliamente descrito, en lactantes sanos el papel de la hepcidina en la respuesta inmunitaria y en el metabolismo del hierro no ha sido bien definido. Por otro lado, el déficit de hierro en lactantes sigue siendo un problema de salud pública a pesar de las intervenciones preventivas realizadas en los últimos años, como la fortificación dietética. En este sentido, la suplementación dietética con hierro ha contribuido a una disminución de la prevalencia de ferropenia. Sin embargo, siguen existiendo importantes lagunas de conocimiento respecto a la dosis correcta de suplementación y las implicaciones clínicas de la ferropenia y anemia ferropénica en el desarrollo del lactante.

Objetivos.

-Estudiar la influencia de los procesos infecciosos y la expresión de citocinas inflamatorias en los niveles de hepcidina sérica, ferritina y hemoglobina, en una población de lactantes sanos, en Reus (Tarragona).

-Determinar la prevalencia de ferropenia y anemia en lactantes de 6 y 12 meses de vida en nuestra área, y evaluar el efecto de la alimentación y de la suplementación dietética con diferentes dosis de hierro sobre el metabolismo del hierro y el desarrollo de los lactantes.

Sujetos y Métodos.

Estudio longitudinal prospectivo y estudio de intervención aleatorizado doble ciego de los 6 a los 12 meses. Participaron recién nacidos sanos, a término y de peso adecuado a edad gestacional. Se valoraron características socio-demográficas, medidas antropométricas, registro alimentario y de procesos infecciosos. Se determinaron los niveles de hemoglobina (Hb), volumen Corpuscular medio (VCM). Ferritina sérica (FS), proteína C reactiva (PCR), hepcidina sérica mediante ELISA, DRG hepcidin ELISA kit.® y citocinas séricas en suero Flow Cytomix Múltiple® Th1/Th2 11 (IL1-β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, INF-γ, TNF-α, TNF-β) a los 6 y a los 12 meses. A partir de los 6 meses a los lactantes alimentados con fórmula adaptada se aleatorizaron en dos grupos: grupo A, alimentados con una fórmula con alto contenido en hierro (1.16mg/ml) y el grupo B, alimentados con una fórmula con bajo contenido en hierro (0.44mg/ml).

Resultados y Conclusiones.

Participaron 124 recién nacidos a término (43% varones). Un 50% de los lactantes presentaron infecciones (32% bronquitis, 11% bronquiolitis, 7% otitis media aguda (OMA), 11% gastroenteritis (GEA), 6% Infección del tracto urinario (ITU). La lactancia materna fue un factor protector (OR= 0.26) y la asistencia a guardería un factor de riesgo (OR= 4.55) de infección. En cuanto a los valores del hemograma se observó un incremento de los niveles medios de hemoglobina (g/dL) de los 6 meses, de 11.78 ± 0.82 , a los 12 meses 12.04 ± 0.78 ($p < 0.001$), con un VCM (fL) 76.58 ± 10.89 y 79.50 ± 5.7 ($p < 0.001$), respectivamente. Respecto a la ferritina (mcg/L), se observó una progresiva disminución de sus niveles en el seguimiento. Así, la media al nacimiento fue de 268 ± 137 , a los 6 meses 36.66 ± 26.22 y a los 12 meses 26.44 ± 28.14 ($p = 0.001$). La prevalencia de anemia a los 6 meses fue del 17% ($n = 19$) y del 3.5% ($n = 4$) a los 12 meses ($p = 0.12$), mientras que la de ferropenia a los 6 meses fue de 17% ($n = 8$) y del 20% ($n = 21$) a los 12 meses ($p = 0.001$). Respecto a la prevalencia de anemia ferropénica, fue del 2% ($n = 3$) a los 6 meses y del 1% ($n = 1$) a los 12 meses ($p = 0.15$).

Se encontró una mayor prevalencia de ferropenia a los 12 meses en los niños que recibieron fórmula adaptada con bajo contenido de hierro (0.44mg/100ml) frente a los que recibieron alto contenido de hierro (1.16 mg/100ml) a partir de los 6 meses, 33.3% vs 12.6% ($p = 0.005$), sin diferencias significativas en los valores de anemia ferropénica 18.7% vs 4.8% ($p = 0.12$), desarrollo físico ni patología infecciosa. Destaca una elevada prevalencia de anemia a los 6 meses 34.2% en los lactantes con lactancia materna frente a los que recibieron fórmula adaptada 8% ($P < 0.001$).

La mediana para los valores de hepcidina a los 6 meses fue de 42 ng/ml con intervalo de confianza 25-75% (IC), de (35.73-52.84), y con un incremento a los 12 meses hasta 53.27 ng/ml (IC 41.56-73.47), ($p < 0.001$). A los 12 meses se objetivaron menores niveles de hepcidina en los lactantes anémicos respecto a los no anémicos ($p = 0.04$).

Se evidenció la influencia de la alimentación en los niveles de hepcidina, con valores significativamente más bajos en los lactantes que recibieron lactancia materna

exclusiva durante 6 meses, 39.35 ng/ml (IC 29.2-50.1) frente a los que recibieron fórmula adaptada, 46 ng/ml (IC 37.8-60.2), $p=0.034$; y también en los que recibieron fórmula con bajo contenido en hierro frente a los de alto contenido, 44.90ng/ml (39-53.70) vs 56.20 ng/ml (IC 42.8-78.2), $p=0.04$, respectivamente.

Respecto al estudio de citocinas, en general, se observó un incremento significativo de las citocinas inflamatorias (IL-2, TNF- β) de los 6 a los 12 meses. Los niveles de hepcidina se correlacionaron significativamente con los niveles de IL-1 β y TNF- β ; a los 6 meses, (IL-1 β : Rho=0.28; $p=0.02$, TNF- β : Rho= 0.29; $p= 0.01$, y a los 12 meses: IL-1 β : Rho=0.41; $p<0.001$, TNF- β : Rho= 0.44; $p <0.001$.

Por otro lado, se evidenció una correlación significativa entre citocinas inflamatorias y hemoglobina: a los 6 meses con INF- γ : Rho= 0.26; $p=0.02$, y TNF- α : Rho=0.24; $p=0.02$, y a los 12 meses con IL-6: Rho=-0.25; $p=0.03$. También se observó correlación entre citocinas inflamatorias y ferritina, a los 6 meses con TNF- β : Rho =0.24; $p=0.03$, y con TNF- α : Rho= -0.25; $p=0.004$, y a los 12 meses con IL-8: Rho = -0.26; $p=0.003$. Además, se observó influencia de la alimentación en los niveles de citosinas inflamatorias, con valores indetectables de IL-2 en los lactantes que lactancia materna frente a los alimentados con fórmula adaptada, ($p= 0.02$).

Conclusiones.

- En el presente estudio no se observa relación entre el antecedente de procesos infecciosos y la expresión de citocinas inflamatorias, parámetros del metabolismo del hierro y o presencia de anemia.
- Se objetiva una relación significativa entre los niveles de citocinas inflamatorias (IL-1 β y TNF- β) y los niveles de hepcidina sérica.
- Se observa una relación significativa entre los niveles de hepcidina y la presencia de anemia a los 12 meses.
- Existe una relación significativa entre citocinas inflamatorias y los niveles de ferritina y hemoglobina.
- Se detecta una baja prevalencia de anemia ferropénica a los 6 y 12 meses, con baja prevalencia de ferropenia a los 6 meses (7%) y moderada a los 12 meses (20%). Se evidencia una elevada prevalencia de anemia sin ferropenia a los 6 meses en los lactantes con lactancia materna frente a los que reciben fórmula adaptada.
- Se observa una menor concentración de hepcidina en los lactantes que reciben lactancia materna, así como una menor proporción de infecciones y una menor expresión de IL-2.
- Se objetiva una concentración mayor de hepcidina en los lactantes que recibieron fórmula adaptada con hierro a dosis altas frente a los que recibieron fórmula con dosis bajas de hierro.
- Se evidencia un efecto beneficioso de la suplementación dietética con hierro a dosis altas, con una disminución de la prevalencia de ferropenia, aunque sin efecto sobre la prevalencia de anemia, desarrollo físico ni morbilidad infecciosa en los lactantes.

NDICE

	Página
Relación de figuras y tablas.	2
Abreviaturas.	9
<u>Capítulo 1:</u> Actualización del Tema.	
1.1.Importancia del hierro.	13
1.2. Metabolismo del Hierro.	14
1.3. Peculiaridades del lactante.	21
1.3.1. Sistema inmunitario del lactante.	22
1.3.2. Alimentación en el primer año de vida.	33
1.4. Regulación del Metabolismo del Hierro.	39
1.4.1. Hpcidina	40
1.4.2. Células implicadas regulación del hierro.	42
1.4.3. Alteraciones del metabolismo del hierro.	43
1.5. Diagnóstico de ferropenia y anemia ferropenia.	54
1.6. Repercusiones clínicas de los estados carenciales del hierro.	60
1.6.1. Alteraciones neuroconductuales.	61
1.6.2. Alteraciones respuesta inmunitaria.	63
1.7. Pautas de actuación ante el déficit de hierro.	65
Recomendaciones actuales de las Sociedades Científicas.	66
<u>Capítulo 2:</u> Justificación, hipótesis y objetivos del trabajo.	71
<u>Capítulo 3:</u> Material y Métodos.	77
3.1. Diseño del estudio.	79
3.2. Población de estudio.	81
3.3. Método de recogida de datos.	82
3.4. Variables del estudio.	84
3.5. Descripción de la intervención.	91
3.6. Descripción del seguimiento de los pacientes.	92
3.7. Estudio estadístico.	94
<u>Capítulo 4.</u> Resultados.	95
<u>Capítulo 5.</u> Discusión.	136
5.1. Contribuciones principales del estudio.	137
5.2. Población de estudio.	138
5.3. Resultados.	139
5.4. Limitaciones del Estudio.	162
<u>Capítulo 6.</u> Conclusiones.	166
Aplicabilidad del Estudio y Planteamiento Futuros.	170
Bibliografía.	171
Anexos.	185

INDICE DE FIGURAS		Página
Figura.1	Distribución del Hierro en el organismo.	14
Figura.2	Equilibrio del metabolismo del hierro en el organismo.	16
Figura.3	Transporte de hierro a través del epitelio intestinal.	20
Figura.4	Desarrollo postnatal de las inmunoglobulinas.	25
Figura.5	Valores en la función Th1/ Th2 en el desarrollo del lactante sano, al nacimiento y al año de vida.	27
Figura.6	Desarrollo de las subpoblaciones Th1 y Th2.	29
Figura.7	Funciones de las citocinas en la inmunidad innata.	32
Figura.8	Modelo de estructura de la hepcidina.	40
Figura.9	Esquema de la regulación del metabolismo del hierro bajo el estímulo inflamatorio.	42
Figura.10	Células implicadas en la homeostasis del hierro.	43
Figura.11	Alteraciones de la Hpcidina implicadas en la homeostasis del hierro.	45
Figura.12	Etiopatogenia de la anemia de la enfermedad crónica.	50
Figura.13	Algoritmo de la hipótesis de trabajo.	75

Figura.14	Esquema del estudio “ <i>DeFensas</i> ”.	79
Figura.15	Diagrama de flujo de participantes.	98
Figura.16	Prevalencia de anemia y ferropenia en relación al tipo de lactancia a los 6 meses.	105
Figura.17	Evolución en el tiempo de la concentración de hierro sérico y ferritina.	105
Figura.18	Niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses de vida.	108
Figura.19	Niveles de hepcidina a los 6 meses de vida en función del tipo de lactancia.	110
Figura.20	Valores de hepcidina en lactantes anémicos y sanos a los 12 meses.	113
Figura.21	Niveles de inmunoglobulinas en relación al antecedente de infección a los 6 meses de vida.	118
Figura.22	Niveles de inmunoglobulinas en relación al antecedente de infección a los 12 meses de vida.	119
Figura.23	Niveles de IL-1 en lactantes con hepcidina < mediana y hepcidina > a la mediana a los 6 y 12 meses de vida.	127
Figura.24	Niveles de TNF- β en lactantes con hepcidina < mediana y hepcidina > mediana a los 6 y 12 meses de vida.	127
Figura.25	Niveles de hepcidina en relación a la fortificación dietética con bajo o alto aporte a los 12 meses de vida.	132

INDICE DE TABLAS		Página
Tabla.1	Valores de los parámetros del hemograma en función de la edad.	17
Tabla.2	Requerimientos de aporte externo de hierro en función de la edad.	18
Tabla.3	Componentes de la inmunidad innata.	23
Tabla.4	Niveles de Inmunoglobulinas basados en la edad.	25
Tabla.5	Comparación de las características de las citocinas de la inmunidad innata y adaptativa.	29
Tabla.6	Valores de la concentración de hemoglobina en función de la edad.	47
Tabla.7	Manifestaciones clínicas de la anemia ferropénica.	61
Tabla.8	Factores de riesgo de ferropenia.	66
Tabla.9	Recomendaciones para la prevención de ferropenia en lactantes.	70
Tabla.10	Valores de referencia de sensibilidad de las diferentes citocinas.	88
Tabla.11	Características demográficas de las madres de la muestra.	97
Tabla.12	Características antropométricas al nacimiento de la muestra.	99
Tabla.13	Características antropométricas de los RN por sexo, en comparación al puntaje Z.	100

Tabla.14	Características antropométricas de la muestra a los 6 meses por sexo en comparación al puntaje Z.	100
Tabla.15	Características antropométricas de la muestra a los 12 meses por sexo en comparación al puntaje Z.	100
Tabla.16	Análisis univariante de la influencia de las diferentes variables en el desarrollo de infecciones.	101
Tabla.17	Análisis de la influencia de la PCR en la hemoglobina y ferritina a los 6 y 12 meses.	102
Tabla.18	Características antropométricas de los recién nacidos al nacimiento y a los 6 meses de vida en función al tipo de alimentación.	103
Tabla.19	Relación entre los parámetros hematológicos y bioquímicos del estado del hierro con el tipo de lactancia a los 6 meses de vida.	104
Tabla.20	Valores bioquímicos del estado del hierro al nacimiento, 6 y 12 meses de vida y del hemograma a los 6 y 12 meses.	106
Tabla.21	Datos de anemia, ferropenia y anemia ferropénica a los 6 y 12 meses.	107
Tabla.22	Niveles de hepcidina en lactantes sanos a los 6 y 12 meses de vida.	108
Tabla.23	Niveles de hepcidina según el sexo a los 6 y 12 meses de vida.	109
Tabla.24	Valores de Hepcidina según la alimentación con lactancia materna o fórmula adaptada a los 6 meses.	109

Tabla.25	Valores de Hepsidina según alimentación con lactancia materna o fórmula adaptada a los 6 y 12 meses de vida.	110
Tabla.26	Valores de Hepsidina y presencia de ferropenia a los 6 y 12 meses de vida.	111
Tabla.27	Análisis de la influencia de las diferentes variables del metabolismo del hierro en los niveles hepcidina a los 6 y 12 meses de vida.	112
Tabla.28	Valores de Hepsidina y presencia de anemia a los 6 y 12 meses de vida.	113
Tabla.29	Análisis de los niveles de Hepsidina y el antecedente de proceso infeccioso.	113
Tabla.30	Análisis de la Influencia de las diferentes citocinas en los niveles de hepcidina a los 6 meses de vida.	114
Tabla.31	Análisis de la Influencia de las diferentes citocinas en los niveles de hepcidina 12 meses de vida.	114
Tabla.32	Estudio correlación de los factores relacionados con los niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses.	115
Tabla.33	Análisis multivariante de la variable hepcidina a los 6 y 12 meses.	116
Tabla.34	Niveles de Inmunoglobulinas basados en la edad.	117
Tabla.35	Influencia del tipo de alimentación en los niveles de las diferentes inmunoglobulinas.	117

Tabla.36	Influencia del antecedente de patología infecciosa en los valores de inmunoglobulinas.	118
Tabla.37	Niveles de citocinas a los 6 y 12 meses de vida.	120
Tabla.38	Influencia del tipo de alimentación en los niveles de las diferentes citocinas a los 6 meses.	121
Tabla.39	Correlación entre los niveles plasmáticos de citocinas y variables relacionadas con el metabolismo del hierro (hepcidina, hemoglobina, ferritina) y los niveles plasmáticos de las citocinas inflamatorias a los 6 meses.	122
Tabla.40	Correlación entre los niveles plasmáticos de citocinas y variables relacionadas con el metabolismo del hierro (hepcidina, hemoglobina, ferritina) y los niveles plasmáticos de las citocinas inflamatorias a los 6 y 12 meses.	123
Tabla.41	Comparación de los niveles plasmáticos de las citocinas pro-inflamatorias estudiadas según la presencia de anemia a los 6 y a los 12 meses.	124
Tabla.42	Comparación de los niveles plasmáticos de las citocinas inflamatorias estudiadas según la presencia de ferropenia a los 6 y a los 12 meses.	125
Tabla.43	Comparación de los niveles plasmáticos de las citocinas inflamatorias estudiadas según los niveles de hepcidina (\geq o $<$ a la mediana) a los 6 y a los 12 meses	126
Tabla.44	Comparación de los niveles plasmáticos de las inflamatorias estudiadas según los niveles de hepcidina (\geq o $<$ cuartil 75%) a los 6 y a los 12 meses.	128

Tabla.45	Influencia del antecedente de infección en los niveles de las diferentes citocinas a los 12 meses.	129
Tabla.46	Influencia de la alimentación con diferentes dosis de fortificación en el desarrollo físico a los 12 meses	130
Tabla.47	Influencia de la alimentación con diferentes dosis de fortificación en el metabolismo de hierro a los 12 meses.	131
Tabla.48	Relación entre procesos infecciosos y el tipo de formula adaptada, enriquecimiento alto: 1,16 mg de hierro/100ml; y bajo.	131
Tabla.49	Relación entre niveles de hepcidina y el tipo de formula adaptada, enriquecimiento alto: 1,16 mg /100ml; y bajo 0.44mg/100 ml de hierro.	132
Tabla.50	Relación entre niveles de citocinas y el tipo de formula adaptada, enriquecimiento alto: 1,16 mg /100ml; y bajo 0.44mg/100 ml de hierro.	133

Abreviaturas

AAP: Academia Americana de Pediatría.

CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

DMT1 : Divalent Metal Transporter 1.

DE: desviación estándar.

ESPGHAN: European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition.

FS: Ferritina sérica.

Hb: hemoglobina.

HCM: Hemoglobina corpuscular media.

CHCM: Concentración de Hemoglobina corpuscular media.

HH: Hemocromatosis hereditaria.

HLA: complejo de histocompatibilidad.

Ig: Inmunoglobulina.

IL-1: Interleucina 1.

IL-2: Interleucina 2.

IL-4: Interleucina 4.

IL5: Interleucina 5.

IL-6: Interleucina 6.

IL10: Interleucina 10.

IL-12: Interleucina 12.

L1Ra: antagonista del receptor IL-1.

INF- γ : interferón gamma.

IC 95%: intervalo de confianza del 95%.

LA: lactancia artificial.

LM: lactancia materna.

Linf.: linfocito.

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey.

NK: natural killer.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PCR: proteína C reactiva.

sIgA: Inmunoglobulina A secretora.

ST: saturación de transferrina.

TGF: factor transformante de crecimiento.

TF: Transferrina sérica.

TNF α : factor de necrosis tumoral alfa.

USPSTF: U.S. Preventive Service Task Force.

VPP: predictivo positivo.

VCM: volumen corpuscular medio.

1. INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1. Importancia del hierro

El hierro es un elemento químico fundamental. Se encuentra como componente esencial en todas las formas de vida (McCranor et al., 2013), (Oliveira, Rocha, & Fernandes, 2014). En el organismo humano su facilidad para oscilar entre la forma iónica ferrosa y férrica le permite actuar indistintamente como donante o receptor de electrones durante el metabolismo celular. De esta manera interviene en funciones vitales como el transporte del oxígeno en la sangre (grupo hemo de la hemoglobina), reacciones enzimáticas (forma parte de los citocromos) y el metabolismo oxidativo (Abbaspour, Hurrell, & Kelishadi, 2014), (Rishi, Wallace, & Subramaniam, 2015). Sin embargo, las mismas propiedades que hacen a este mineral esencial para procesos biológicos vitales son las que lo hacen tóxico para el organismo, ya que puede generar radicales libres y daño oxidativo celular. Por este motivo, es necesario un control estricto del metabolismo del hierro.

El hierro es considerado un nutriente imprescindible para el desarrollo, diferenciación, proliferación y crecimiento celular. Además, es fundamental para el correcto desarrollo del feto y del lactante, de tal manera que su carencia en estas etapas críticas de la vida puede producir efectos adversos en el desarrollo físico, psicomotor e inmunitario con repercusión en edades posteriores de la vida. (Lozoff et al., 2013)

1.2. Metabolismo del Hierro.

1.2.1. Contenido corporal de hierro.

El contenido corporal de hierro es variable y puede verse influido por numerosos factores, entre ellos la edad y el sexo del sujeto. En adultos sanos y en circunstancias normales la cantidad total de hierro corporal es de aproximadamente 1000 mg (Pietrangelo, 2004). La mayoría del hierro del organismo (75%) se encuentra incorporado a la hemoglobina, un 5-15 % se encuentra en la fibra muscular (mioglobina) y otros tejidos (enzimas y citocromos) y el 10-20% restante es almacenado en células del parénquima hepático y en macrófagos del sistema retículo-endotelial (SER) en forma de depósito, como ferritina (Fig.1). (Muñoz, Villar, & García-Erce, 2009), (Chiabrando, Mercurio, & Tolosano, 2014).

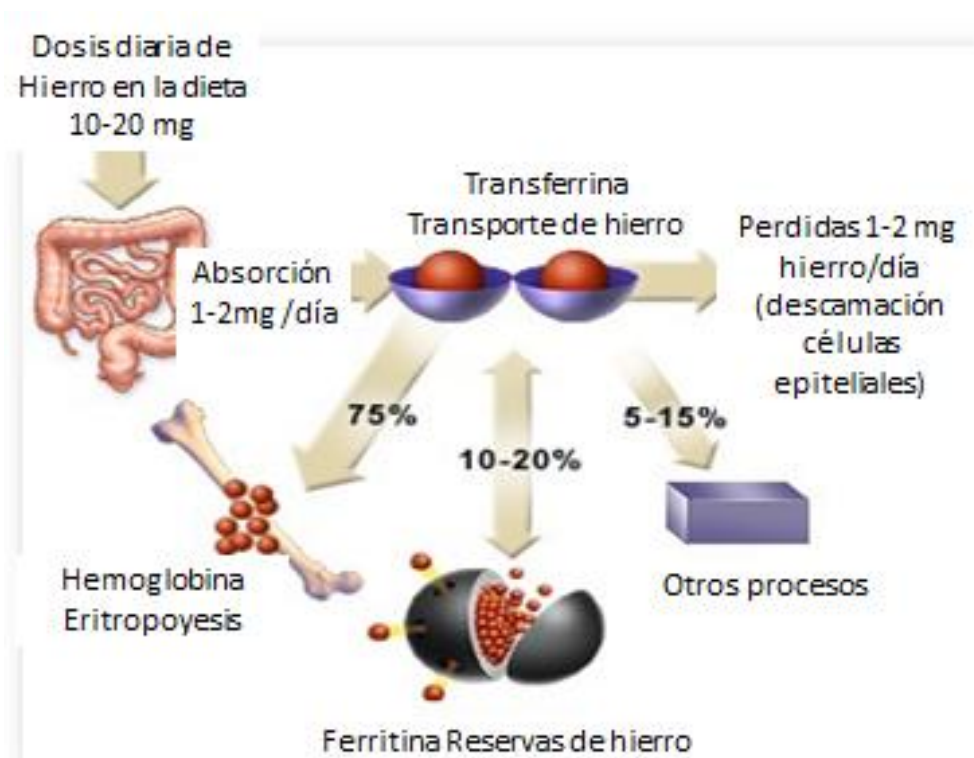


Fig.1. Distribución del Hierro en el organismo. Adaptado Biblioteca John Hopkins USA.

Para estudiar la distribución del hierro en el organismo se hará referencia a una clasificación teórica pero didáctica en compartimentos, priorizando la función que realiza cada fracción en el organismo. Con este criterio se diferencian tres compartimentos:

1. Compartimento funcional: es el mayoritario. En él se localiza el 75% del hierro total del organismo. Está constituido por el hierro de la hemoglobina, la mioglobina, los citocromos y el que actúa como cofactor de enzimas (Saito, 2014).
2. Compartimento de reserva: formado, como indica su nombre, por las reservas corporales de hierro. Estos depósitos de hierro se localizan en hígado, bazo y médula ósea. En estos órganos, el hierro se almacena en forma de proteínas, llamadas de almacenamiento, como la ferritina (Mitchell & Mendes, 2013)
3. Compartimento de transporte: está constituido por el hierro unido a la transferrina o proteína de transporte. Este tercer compartimento, desempeña un papel fundamental, ya que es responsable del intercambio entre los otros dos compartimentos. Sin embargo, en cantidad representa aproximadamente el 1% de todo el hierro del organismo (Saito, 2014)

El metabolismo del hierro, su absorción, depósito y reciclaje es llevado a cabo con gran eficacia por el organismo, de tal manera que se mantiene una cantidad total constante, equilibrando ingresos y pérdidas (Pietrangelo, 2004). La mayoría de hierro en plasma, procede de la degradación continua del grupo *hem* de los eritrocitos senescentes por los macrófagos del SRE. El organismo ha de mantener la eritropoyesis, y para ello las necesidades de hierro plasmáticas diarias son de 20 a 30 mg. El hierro restante se reparte entre las reservas corporales y la mioglobina. Las reservas del hierro del organismo son almacenadas primariamente en los hepatocitos y enterocitos del duodeno y dependiendo de los requerimientos, el hierro es transferido al compartimento plasmático o almacenado como ferritina.

El hierro almacenado en el enterocito es eliminado vía digestiva junto con el enterocito al concluir el ciclo vital de éste, constituyendo las únicas pérdidas de hierro. En el estado de equilibrio, 1-2 mg de hierro entra y sale del organismo cada día. (Fig. 2). En la infancia, los requerimientos de hierro se encuentran aumentados y las reservas no son estables como sucede en la edad adulta, si no que varían en función de la edad. Así, en el recién nacido el contenido de hierro es de 250 a 300 mg (75 mg/kg peso corporal), (Ponza, Devaney, Ziegler, Reidy, & Squatrito, 2004), (S. Berglund & Dome-llöf), (Domellöf et al., 2014).

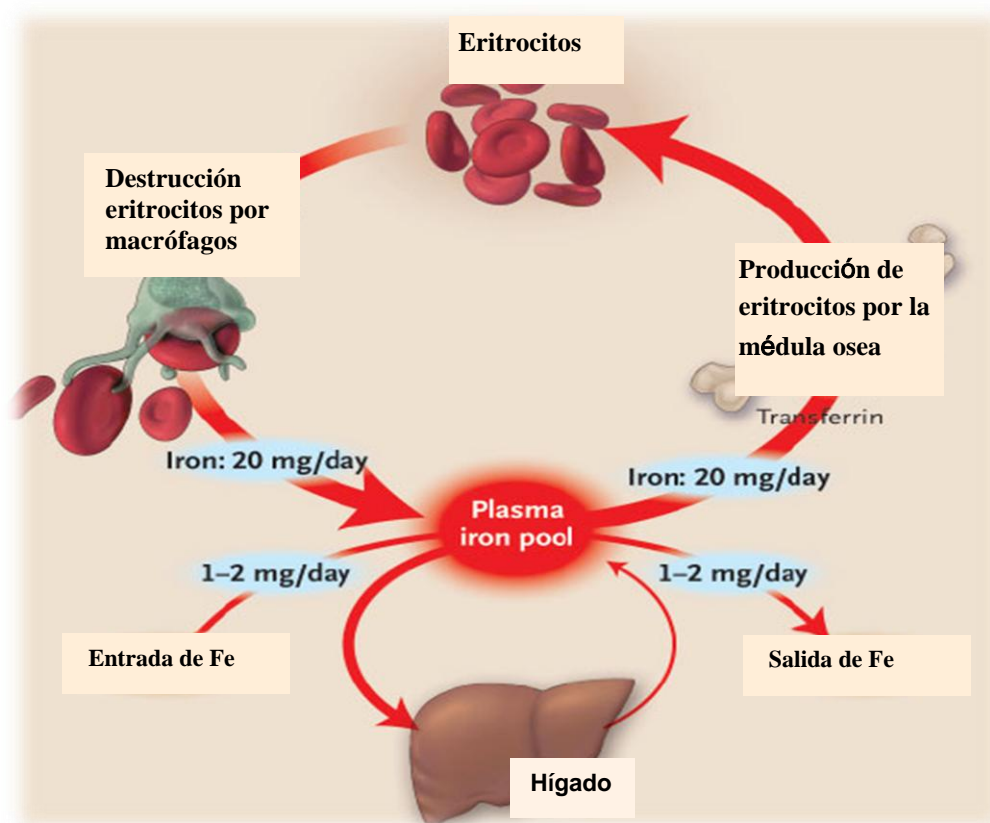


Fig.2. Equilibrio del metabolismo del hierro en el organismo.

Adaptado de Adaptada de New England Journal of Medicine. 1999.

En el recién nacido el hierro proviene de las reservas maternas y del catabolismo de la hemoglobina. El paso de hierro de la madre al feto, se produce a través de la placenta y se lleva a cabo fundamentalmente en el tercer trimestre de gestación (Collard, 2009).

Durante las primeras semanas de vida la concentración de hemoglobina del RN sano sufre cambios fisiológicos (Domellöf, 2007), (S. Berglund & Domellöf, 2014). La concentración de Hb disminuye poco a poco hasta llegar a valores mínimos entre las 8 y 12 semanas de vida (Werner & Stockman, 1983), (Milman, 2011), (Haider et al., 2013). Tabla 1.

Edad	Hemoglobina (g/dL)	Hematocrito (%)	Hematíes (g/dL)
Recién nacidos	14-21	45-64	4-5,6
1 mes	11-19	40-60	3,6-5
3 meses	9,5-14,5	31-41	3,1-4,5
Lactante >3 meses	10,5-14,5	33-41	3,3-4,5

Tabla.1. Valores de los parámetros del hemograma en función de la edad en el lactante.

Adaptado de Behrman RE, Kliegman M, Jenson HB. Ed Nelson. 16 th Ed, Philadelphia: WB. Saunders; 2000.

Las cifras elevadas de hemoglobina y reticulocitos al nacimiento reflejan una respuesta eritropoyética al medio intrauterino hipóxico. Tras entrar el neonato en un medio rico en oxígeno al nacimiento, los niveles de eritropoyetina disminuyen considerablemente con disminución notable de reticulocitos y de la actividad eritropoyética de la medula ósea (MOE, 1963), (Werner & Stockman, 1983). Además, el RN empieza a producir Hb adulta, por lo que la concentración de Hb necesaria será más baja. A estos hechos se suma también el acortamiento de la supervivencia de los eritrocitos en lactantes, que es de 80 a 100 días. Todo ello conduce a una considerable redistribución de hierro desde los eritrocitos catabolizados a los depósitos de hierro del lactante. Estas reservas aumentadas del recién nacido son suficientes para cubrir las necesidades de hierro durante aproximadamente los primeros 4-6 meses de vida (Beard, 2008), (Ponza et al., 2004), (Collard, 2009), (Hallberg, 1992), (Desforges & Oski, 1993). A partir de los 4 meses, los requerimientos de hierro aumentan hasta aproximadamente 0,8 mg/día debido al rápido crecimiento.

En el primer año de vida se triplica el peso al nacer. Así, durante este periodo de crecimiento, el lactante aumenta los requerimientos de hierro, ascendiendo a los 12 meses a 11mg/día (Collard, 2009). Tabla.2

Edad	Hierro (mg/d)
Recién nacidos	0,6
4 mes	0,8
6 meses	7
12 meses	11

Tabla.2. Requerimientos de aporte externo de hierro en función de la edad.

Adaptada de Keith y cols. 2009

1.2.2. Absorción intestinal.

La dieta tiene un papel importante en la homeostasis del hierro (Bothwell, Baynes, MacFarlane, & MacPhail, 1989). Aunque la absorción puede producirse en cualquier punto del intestino delgado, es máxima en duodeno (Singh et al., 2006), (Abbaspour et al., 2014). En general, la absorción del hierro de los alimentos oscila entre el 5 y el 10% aproximadamente, compensándose con ello las pérdidas diarias. Esta absorción puede aumentar hasta el 20-30% en situaciones de deficiencia de hierro, aumento de la actividad eritropoyética o aumento de las pérdidas (Hurrell & Egli, 2010), (Singh et al., 2006), (S. Berglund & Domellöf, 2014). Respecto a la dieta, la absorción del hierro varía con los diferentes alimentos. De tal manera, en los tejidos animales se encuentra el hierro en forma *hemo* que se absorbe mejor que el hierro de origen vegetal o *no hemo*. Así, la absorción puede llegar a ser cercana al 20% en el caso de la carne roja. También se asimila bien, aunque en concentraciones algo inferiores, el hierro *hemo* de las aves de corral, pescado y leche. Por otra parte, la absorción de hierro *no hemo* oscila entre el 1,4% y el 7% dependiendo de los vegetales (Singh et al., 2006), (Abbaspour et al., 2014), (Nancy C Andrews, 2005). En los primeros meses de vida la alimentación es fundamentalmente láctea.

El hierro de la leche materna se absorbe con una alta eficacia. Su biodisponibilidad es del 50% en comparación del 4% de las fórmulas para lactantes (Ayoya et al., 2009), (Skikne, Lynch, & Cook, 1981), (Butte, Garza, Smith, Wills, & Nichols, 1987), (Suthutvoravut et al., 2015). Por tanto, aunque la concentración de hierro en la leche humana es baja es parcialmente compensada por su elevada biodisponibilidad (Saarinen & Siimes, 1977).

El hierro procedente de la dieta es absorbido en el enterocito. Una vez en el interior éste tiene dos posibles destinos: la porción que no es necesaria para su uso inmediato es almacenada como ferritina, en el enterocito y eliminada del organismo vía fecal al final de la vida media de estas células, y el resto del hierro es transferido a través de la membrana basolateral a la transferrina plasmática y distribuido por el organismo (Nancy C Andrews, 2005), (Nancy C Andrews, 2012), (Lönnerdal & Kelleher, 2009), (Mills & Davies, 2012), (S. K. Berglund, Westrup, & Domellöf, 2015).

El hierro en los alimentos se encuentra fundamentalmente como ión férrico. Para su óptima absorción en la membrana apical debe ser reducido a sulfato ferroso, labor realizada por la enzima férrica duodenal reductasa (*Dcytb*), (Walter et al., 1993), (Skikne et al., 1981). Ya en la célula el hierro es transportado por el transportador de metal divalente *DMT1* (Nancy C Andrews, 2005), (N C Andrews, 1999), (Kühn, 2015). Posteriormente, para su paso hacia el torrente sanguíneo precisa de la acción coordinada de una ferroxidasa denominada *hephaestina*, presente en la membrana celular y mediante la cual, el hierro es oxidado, y de la *ferroportina 1*, transportador basolateral, responsable de la excreción del hierro del enterocito y de su paso a la circulación (Nemeth et al., 2004), (Vulpe et al., 1999), (J Arezes & Nemeth, 2015), fig.3.

El hierro procedente del enterocito se une a la proteína transferrina. Cuando la saturación de transferrina es máxima aproximadamente del 30%, disminuye la expresión del receptor de transferrina y el hierro es liberado a la circulación.

Este hierro libre, tóxico, es captado por el hepatocito, ya que puede contribuir a lesiones celulares por oxidación. Es por este motivo que la absorción del hierro debe estar altamente regulada.

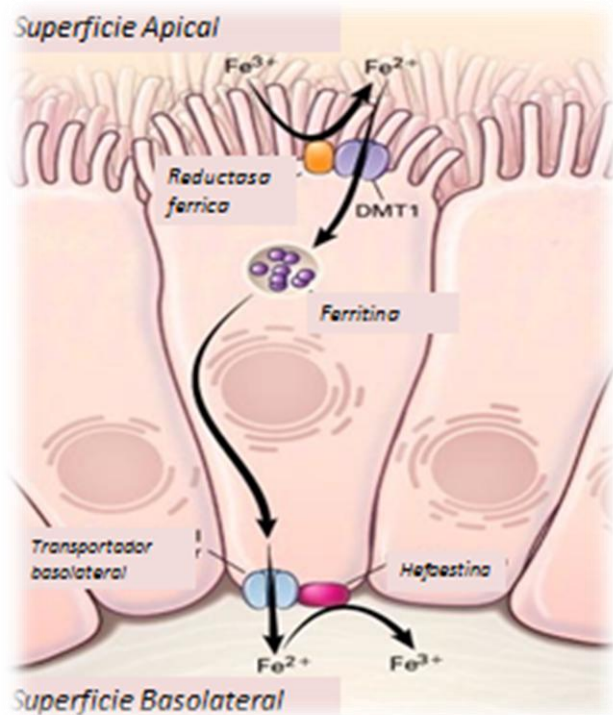


Fig. 3. Transporte de hierro a través del epitelio intestinal.

Adaptada de New England Journal of Medicine. 1999.

Recientemente se ha descrito un papel clave de dos proteínas, la **ferroportina** y la **hepcidina**, en la regulación de la absorción del hierro, y por tanto en su metabolismo. La **ferroportina1**, es el mayor exportador de transmembrana de hierro, actúa en la membrana basolateral, a nivel del epitelio intestinal, macrófagos y otras células captadoras de hierro (Nemeth et al., 2004), (De Domenico, Ward, & Kaplan, 2011). Es responsable de la transferencia de hierro desde el intestino a la circulación, e interviene también en el transporte del hierro a otros órganos, principalmente la placenta, donde el hierro se transfiere de la circulación materna al feto (McKie et al., 2000). La actividad de la ferroportina es controlada por la **hepcidina**. Esta es un péptido que actúa como regulador central del metabolismo del hierro (Tomas Ganz & Nemeth, 2012), provocando la internalización y degradación lisosoma de la ferroportina (McCranor et al., 2013), (McKie et al., 2000), (Nemeth et al., 2004).

1.2.3.Excreción de Hierro.

En condiciones de normalidad las pérdidas de hierro por las vías de excreción, heces y orina, son mínimas y comparables a la cantidad absorbida (Pietrangelo, 2004). Las pérdidas de hierro se calculan durante este periodo de la lactancia de 0,15 mg Fe/día (Fomon, Nelson, Serfass, & Ziegler, 2005). El equilibrio es estricto y se regula a través de la capacidad de absorción intestinal. El hierro eliminado por las heces es fundamentalmente aquel no absorbido en la dieta y el correspondiente a la ferritina contenida en los enterocitos descamados (Lieu, Heiskala, Peterson, & Yang), (Pietrangelo, 2004). Por otra parte, la eliminación de hierro en la orina es insignificante en sujetos sanos, debido a que circula unido a proteínas que no se filtran por los glomérulos renales (Fomon et al., 2005). En determinados estados patológicos, como la hemolisis intravascular el síndrome nefrótico, y la hemocromatosis, sí se observa una excreción urinaria aumentada (Wiltink, van Eijk, Bobeck-Rutsaert, Gerbrandy, & Leijnse, 1972), (FINCH & FINCH, 1955).

1.3. Peculiaridades del lactante.

El periodo de lactante se extiende desde los 28 días de vida hasta los 24 meses. Se trata de un periodo crítico y vulnerable de la vida, que se caracteriza por un acelerado ritmo del crecimiento y de maduración de los principales sistemas del organismo (digestivo, neurológico e inmunitario), así como por un desarrollo psicomotor que se expresa en la adquisición y perfeccionamiento de habilidades y de las capacidades motoras gruesas y finas.

1.3.1. Sistema inmunitario del lactante.

Aspectos generales

El sistema inmunitario del RN es inmaduro, sus órganos y su función aún no están desarrollados completamente (Stiehm ER, .1989). Su desarrollo será progresivo durante la lactancia y dependerá de la exposición a estímulos antigénicos. Esta inmadurez provoca en el recién nacido y el lactante una mayor susceptibilidad para adquirir infecciones (Chilmonczyk, Levin, McDuffy, & Hayward, 1985). Así, en este periodo son frecuentes los procesos infecciosos recurrentes.

El desarrollo del sistema inmunitario humano comienza intraútero durante las primeras semanas de gestación. El sistema inmunitario se diferencia en dos, el **sistema inmunitario innato** y el **sistema inmunitario adquirido**. Ambos inician su desarrollo al mismo tiempo con el desarrollo del sistema hematopoyético en el mesodermo del saco vitelino a las 3-4 semanas de gestación, y continúa con el desarrollo del timo y de la médula ósea, ambos órganos son considerados órganos inmunitarios principales intraútero. El timo está implicado en el desarrollo de las células T y por tanto de la inmunidad celular; y la médula ósea, en el desarrollo de las células B, es decir, de la inmunidad humoral. (Roitt IM., 1991).

Respuesta inmune innata, es una respuesta no específica. Está compuesta por componentes celulares y humorales, y no mejora tras la exposición a un antígeno específico. La inmunidad innata incluye la piel y mecanismos de defensa externos, componentes celulares, (macrófagos, neutrófilos, y monocitos), sistema de complemento y citocinas. (Basha, Surendran, & Pichichero, 2014). Tabla. 3.

Componentes	Principales Funciones
Barreras	
Células Epiteliales	Previene La entrada de microorganismos
Defensinas	Destrucción de microorganismos
Células efectoras	
Neutrófilos	Fagocitosis y destrucción de microorganismos
Macrófagos	Fagocitosis y destrucción de microorganismos, Secreción de citocinas inflamatorias.
Linfocitos NK	Lisis de células infectadas, estimulación de macrófagos
Proteínas Efectoras Circulantes	
Complemento	Destrucción y opsonización de microorganismos, Activación de leucocitos
PCR	Opsonización de microorganismos, Activación del Complemento.
Factores de Coagulación	Tabicación de tejidos infectados
Citocinas	Mediadoras y reguladoras de la respuesta inflamatoria

Tabla.3. Componentes de la inmunidad innata.

Adatado de Inmunología celular y molecular. Abul K. Abbas.Ed. ELSEIVER 5Ed.2004.
 S, Francisco. California.

En cuanto a las deficiencias que presenta el RN y lactante, destacan la inmadurez de las barreras naturales, la disminución en el número y función de neutrófilos, células Natural Killer (NK), y macrófagos, y una respuesta inflamatoria deficiente, con baja producción de citocinas, y un sistema de complemento con niveles inferiores al del adulto (50%), alcanzándose los niveles normales entre los 6 y 18 meses de vida (Carding SR, et al, 1991).

Respuesta inmune adaptativa

La respuesta inmune adquirida o adaptativa es una respuesta inmunitaria específica frente a determinados antígenos. Se compone de células, linfocitos B y T y células presentadoras de antígeno.

En el RN y lactante, esta respuesta está alterada, observándose una disminución de la función celular de los linfocitos T y B, aunque el número total de linfocitos está aumentado desde el nacimiento hasta el 5^o-6^o mes de vida, (Basha et al., 2014).

a. Linfocitos B

Las primeras células B identificables se encuentran en el hígado fetal.

La diferenciación posterior da lugar a células B inmaduras, que sintetizan moléculas de inmunoglobulinas M (IgM) de superficie completa. Conforme estas células proliferan, empiezan a producir sobre sus membranas otras clases de inmunoglobulinas de superficie, entre ellas inmunoglobulinas G y A, así se diferencian a linfocitos B maduros, con un amplio repertorio de inmunoglobulinas de superficie específicas que actúan como receptores de antígeno. La interacción de un antígeno con estos receptores inicia una segunda fase de proliferación y diferenciación, que conduce al desarrollo de células memoria, así como células plasmáticas productoras de anticuerpos. Por cada respuesta a antígeno, se repite la secuencia de IgM o respuesta aguda inicial y una respuesta de memoria IgG (Kallionpää et al., 2014).

Hay cinco isotipos de inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgD, e IgE.

La IgG es la única inmunoglobulina que atraviesa la placenta. Existe una transferencia de la madre al feto desde la semana 20 de gestación. (Stites, Caldwell, Carr, & Fudenberg, 1975). Estos anticuerpos transferidos van a proteger al RN y al lactante de procesos infecciosos durante un periodo crítico de inmadurez del sistema inmunitario (Cunningham-Rundles et al., 2009). Se trata de una inmunidad pasiva humoral, con transferencia de anticuerpos específicos para determinados antígenos.

El niño alcanza los niveles de inmunoglobulinas del adulto entre el año y los 12 años (Yang, Lin, River, & Moawad, 1983), (Hernell, Fewtrell, Georgieff, Krebs, & Lönnerdal, 2015), (Boersma, 1981). Los niveles de IgM e IgA al nacimiento son mínimos. Es por ello que las concentraciones de IgA, IgM, e IgG en la infancia han de interpretarse en función de la edad del niño (Hayward, 1973). Tabla.4. En la figura 5 se muestran los niveles de inmunoglobulinas de la etapa intraútero a la postnatal.

Edad	IgG (mg/dL)	IgM (mg/dL)	IgA (mg/dL)
1-3 meses	430	30	21
4-6 meses	427	43	28
7-12 meses	661	54	37

Tabla.4. Niveles de Inmunoglobulinas (mg/dl) basados en la edad cronológica. Valores de referencia del laboratorio Hospital Sant Joan de Déu.

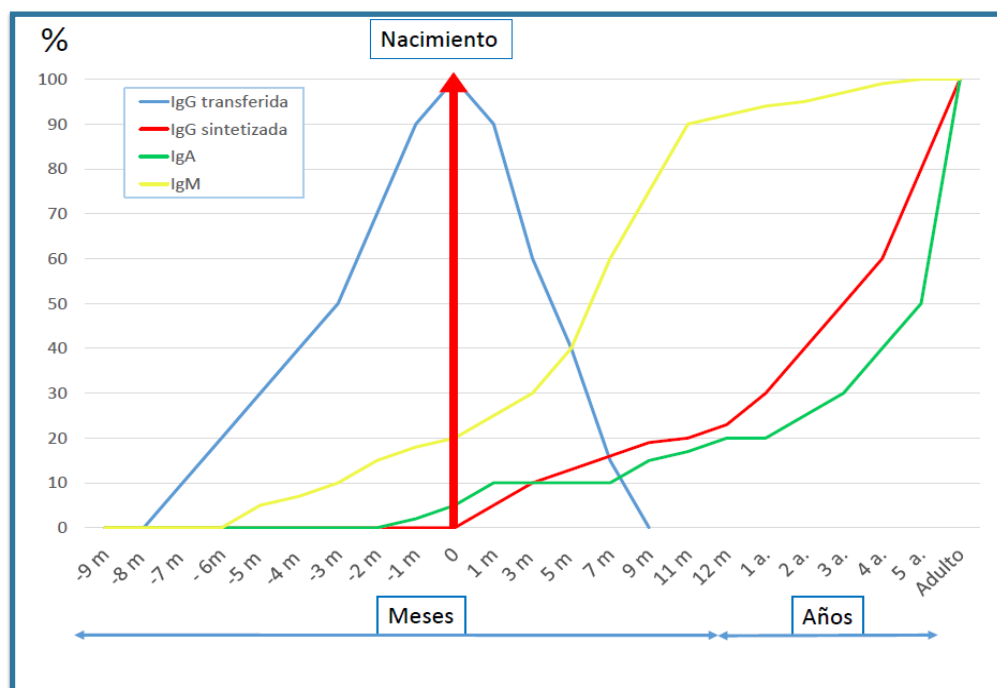


Fig.4. Desarrollo de las inmunoglobulinas.hasta la edad adulta Cifra media de Ig en mg/dl. Adaptada de García Martínez JM, Santos-Díez L, Dopazo L Diagnóstico de las inmunodeficiencias primarias. Protoc diagn pediátr. 2013; 1:81-92

La concentración total de inmunoglobulinas en el lactante está determinada por el volumen de IgG materna transferida a través de la placenta, por el catabolismo de esta IgG, y por la producción de IgM, IgA e IgG del propio lactante. Figura. 4. Es frecuente objetivar entre los 2 y 4 meses una hipogammaglobulinemia transitoria por pérdida de la IgG materna trasferida, antes de contar con la producción adecuada de IgG propia (Yang et al., 1983).

La formación de anticuerpos específicos del lactante va a depender de la exposición a antígenos, la función de las células T presentadoras de antígeno y la maduración de células B. (Stites et al., 1975), (Adinolfi & Lessof, 1972). La Inmunoglobulina M (IgM), son anticuerpos de fase aguda como respuesta a la infección. Las respuestas de IgM son breves y más intensas. Se trata de una respuesta de anticuerpos primaria, en cuanto que en un segundo contacto o respuesta secundaria, predomina la respuesta IgG a largo plazo (Boersma, 1981), (Finocchi et al., 2002). Aun así, el tipo de inmunoglobulina producida también depende de la edad y del tipo de antígeno. En el recién nacido predominan las respuestas IgM. Además, no hay respuesta prácticamente a antígenos polisacáridos hasta alrededor de los dos años de edad (Sorensen & Moore, 1994)

b. Linfocitos T

En los lactantes, los linfocitos T colaboradores (Th0), encargados de coordinar la respuesta inicial frente a patógenos, tienen durante este periodo una respuesta predominantemente Th2 (Basha et al., 2014). El balance de células T colaboradoras (Th1/ Th2) cambia a lo largo de la vida, como se observa en la figura 5. La respuesta Th1 está vinculada a la defensa frente a microorganismos y a una respuesta inflamatoria, de tal manera que los linfocitos Th1 segregan fundamentalmente citocinas inflamatorias, como el interferón gamma (INF- γ), la interleucina 1 (IL-1), interleucina 2 (IL-2), y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). A diferencia de los Th1, los Th2 segregan principalmente interleucina 4 (IL-4), que estimula la secreción de inmunoglobulina E (Ig-E), e interleucina 5 (IL-5), que activa los eosinófilos, por lo que tienen un papel primordial en las reacciones alérgicas y en la defensa frente a parásitos.

Durante el embarazo y los primeros meses de vida predomina el paradigma Th2. La disminución de la respuesta Th1 durante la gestación tiene como objetivo proteger al feto y asegurar su desarrollo intraútero (Calder et al., 2006), (Basha et al., 2014). Al nacimiento continúa un predominio T_H2 y no es hasta los 12 meses de vida que se adquiere la respuesta Th1 predominante, siendo la exposición a patógenos del lactante la responsable del cambio hacia una respuesta T_H1 . Al igual que los linfocitos B, las células Th1citotóxicas, tienen una función deficiente en el RN con una baja producción de $INF-\gamma$ (Basha et al., 2014).

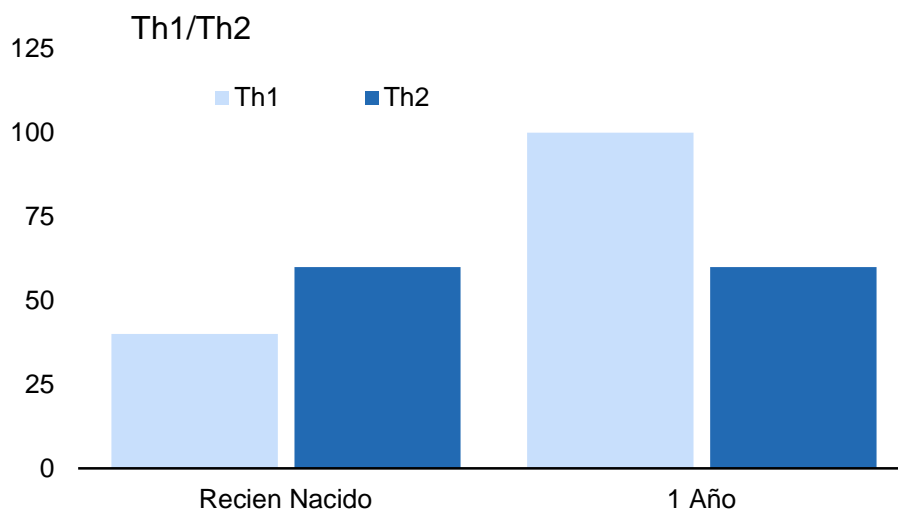


Fig.5. Gráfica que muestra los valores en la función Th1/ Th2 al nacimiento y al año de vida. Adaptada de Bellanti. Immunology IV. 2012; Ed Care Press. Bethesda, Marland.

c. Citocinas en la respuesta inmunitaria

Las citocinas o interleucinas son proteínas secretadas por las células de la inmunidad innata y adaptativa y que median muchas de sus funciones. Se secretan en respuesta a la invasión de microorganismos y antígenos estimulando distintas respuestas inmuno-moduladoras e inflamatorias celulares. Así las citocinas estimulan el crecimiento y diferenciación de linfocitos, activan diferentes células efectoras para eliminar los microorganismos y otros antígenos y estimulan el desarrollo de las células hematopoyéticas. (Rivera & Ganz, 2009), (Hubler, Peterson, & Hasty, 2015).

La síntesis de citocinas es transitoria, su producción en muchas ocasiones está controlada por la liberación proteolítica de un producto activo que estimula el mecanismo de transcripción. Una vez sintetizadas se liberan de forma brusca cuando son necesarias. Su acción puede ser local o sistémica con función autocrina, paracrina o endocrina. Las citocinas Inician sus acciones, al unirse a los receptores específicos en las células diana.

La respuesta celular a la mayoría de las citocinas consiste en cambios en la expresión de genes en las células diana, que dan lugar a la expresión de nuevas funciones y a veces a la proliferación de las células diana. Muchos de los cambios en la expresión génica provocan una diferenciación de linfocitos T y B y una activación de células efectoras, como los macrófagos. (Guida et al., 2015), (Biesma, Van de Wiel, Beguin, Kraaijenhagen, & Marx, 1995). Así, las citocinas estimulan el cambio de isotipo de anticuerpos en los linfocitos B y la diferenciación de los linfocitos T cooperadores Th 0 a las subpoblaciones Th1 y Th2 (Basha et al., 2014) fig.6. Además, las citocinas influyen a menudo en la síntesis y acciones de otras citocinas (Michels, Nemeth, Ganz, & Mehrad, 2015).

Para facilitar su análisis la citocinas pueden agruparse según su función en tres categorías principales: los mediadores y reguladores de la inmunidad innata, mediadores y reguladores de la inmunidad adaptativa y estimuladores de la hematopoyesis. En la tabla 5, se muestra las principales citocinas que participan en la inmunidad innata y adaptativa, junto a sus fuentes celulares primarias.

Característica	Inmunidad Innata	Inmunidad Adaptativa
Citocina	TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, INF- γ	IL-2, IL-4, IL-5, INF- γ
Principal Fuente celular	Linfocitos NK, macrófagos.	Linfocitos T
Funciones Fisiológicas	Mediadores de la inmunidad innata e inflamación	Inmunidad adaptativa, diferenciación de linfocitos y activación macrófagos.

Tabla.5. Comparación de las características de las citocinas de la inmunidad innata y adaptativa .
 NK. Celula Natural Killer. Adaptada de Cellular and molecular immunology. Ed5ª. Elseiver. España.2004

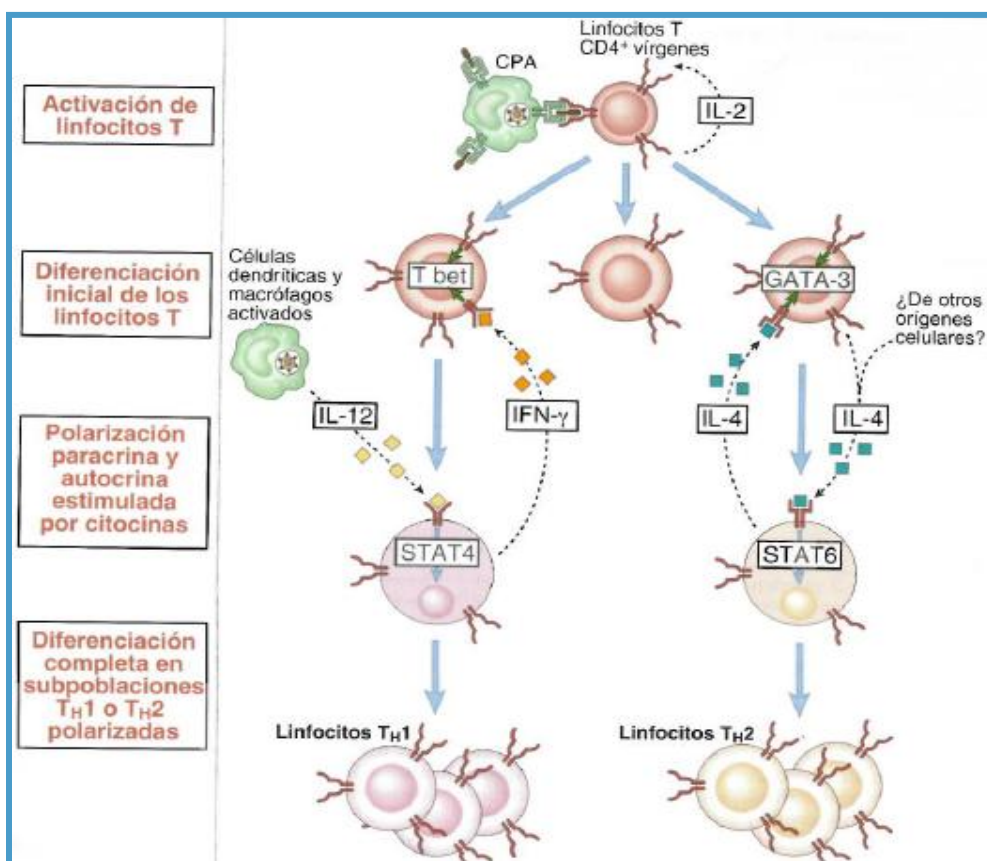


Fig. 6. Desarrollo de las subpoblaciones Th1 y Th2. Las citocinas producidas en la respuesta inmunitaria innata o en las primeras fases de la respuesta adaptativa influyen en la diferenciación de Linf. T CD4⁺ a linfocitos Th1 y Th2. Los macrófagos activados inducen desarrollo Th1 a través vía dependiente STAT 4. La IL4 favorece la la inducción de Th a través vía dependiente STAT 6. STAT. Transmisor de señales y activador de transcripción en respuesta a la unión de citocinas con sus receptores. Tomado de Immunology IV. Bellanti. Ed I Care 2012 Washington.

En relación a las citocinas que median y regulan la inmunidad innata, se encuentran la IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α , e INF- γ (Basha et al., 2014). Estas citocinas, y fundamentalmente IL-1e IL-12, son responsables de la respuesta inflamatoria aguda. (Mantovani et al., 2003). Figura 7.

-Interleucina-1. (IL-1). Es el nombre que se utiliza para denominar a dos péptidos de 17KD, Existen dos formas, IL-1alfa e IL-1 beta que, aunque tienen poca homología en su secuencia de aminoácidos, comparten el mismo receptor y ejercen efectos biológicos similares (Garlanda, Dinarello, & Mantovani, 2013). Es producida por monocitos y macrófagos. Los productos de la pared celular bacteriana entre ellos los lipopolisacáridos (LPS), son un estímulo potentes para la producción de IL-1(Tsutsui, Cai, & Hayashi, 2015). La IL-1 posee efectos proinflamatorios debido a que induce la liberación de histamina por los mastocitos, generando vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Es el principal pirógeno endógeno, induciendo fiebre a través de la producción de prostaglandinas. También promueve la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actúa sobre el sistema nervioso central, induciendo sueño y cansancio, típicamente asociados con los procesos infecciosos (Tsutsui et al., 2015).

-Interleucina-6. (IL-6). Es una glicoproteína de 16 a 21 KD producida por una amplia variedad de células (macrófagos, monocitos, células endoteliales, fibroblastos, linfocitos T y células del estroma de la médula ósea.) tras la exposición a compuestos inflamatorias (LPS, TNF e IL-1) induce la síntesis de proteínas de fase aguda en los hepatocitos, sobre todo de fibrinógeno. Tiene por tanto efectos inflamatorios, (McCranor et al., 2013), (Qian et al., 2014).

-Interleucina-10 (IL-10). Es producida mayoritariamente por linfocitos del tipo Th2. Es la citocina inmunosupresora por excelencia, inhibe la síntesis de muchas otras citocinas, entre las que se encuentran el IFN- γ , TNF- α , IL-2 e IL-12 (Aydin, Aydin, & Agilli).

-Interleucina-12 (IL-12). Es esencial para iniciar la secuencia de respuesta inmunitaria innata de macrófagos y linfocitos NK, estimula la diferenciación de linfocitos Th 0 a Th1, constituyendo un nexo importante entre la inmunidad innata y adaptativa (Fieschi & Casanova, 2003), (Zhang et al., 2003).

-Factor de Necrosis Tumoral (TNF), fue descrito inicialmente por su capacidad de causar necrosis en algunos tumores, pero con posterioridad, gana protagonismo por las numerosas funciones que ejercen sobre la respuesta inmune. Es un péptido de 17 KD sintetizado y secretado por monocitos y macrófagos tras estimulación mediante endotoxina, tales como el LPS (Aggarwal, 2003). Se han descrito dos moléculas estrechamente relacionadas, el TNF- α y el TNF- β , con elevada homología en su secuencia de aminoácidos. Activan otras citocinas como la IL-1, IL-6, y el interferón (Mantovani et al., 2003). El TNF actúa a nivel hepático aumentando la síntesis de proteínas de fase aguda y junto a IL-1 e IL-6, constituye la respuesta de fase aguda frente a estímulos inflamatorios (Machado et al., 2014). El TNF causa fiebre, anorexia, aumento de la permeabilidad capilar, coagulación intravascular diseminada y neutropenia. Se considera la principal citocina responsable del shock séptico (Simonsen, Anderson-Berry, Delair, & Davies, 2014), (Machado et al., 2014).

-Interferón-gamma. (IFN- γ). Es producido por linfocitos Th1, citotóxicos y por células NK. Además de su efecto antiviral posee una importante actividad inmunomoduladora, de tal manera que incrementa la expresión de complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) de clase I y II, facilitando la función presentadora de antígeno y además activando a macrófagos e incrementando su capacidad de defensa contra las infecciones. También se sabe que actúa de forma autocrina sobre las propias células NK que lo producen, aumentando su actividad citolítica y, como consecuencia, incrementando su efecto antitumoral. Además inhibe la proliferación de linfocitos Th2, de manera que su presencia durante la estimulación antigénica induce la diferenciación de linfocitos T hacia células efectoras tipo T_H1 favoreciendo, por lo tanto, el desarrollo de la respuesta inflamatoria (Sundström et al.), (Cleary et al., 2003). Entre las citocinas que median la inmunidad adaptativa destaca IL-2, IL-4 e INF- γ .

-Interleucina-2 (IL-2). Es secretada por linfocitos colaboradores y citotóxicos activados en respuesta a estímulos antígenicos. Aunque inicialmente se describió como factor de crecimiento de células T, ya que es el principal agente que controla su proliferación, hoy en día se conoce que también es un factor estimulador del crecimiento de linfocitos B y células NK. Y que promueve la actividad citotóxica mediada por estas células. También regula la respuesta inmunitaria, e interviene en la reacción inflamatoria estimulando la síntesis de INF, e induciendo la liberación de IL-1, y TNF. Así mismo, es necesaria para el establecimiento de la memoria inmunitaria celular, así como, para el reconocimiento de antígenos (Galan, Thibault, Preziosi, & Hercberg).

-Interleucina-4 (IL-4): Es producida por linfocitos Th2, mastocitos, basófilos, y células del estroma de la médula ósea. Promueve la diferenciación de linfocitos T hacia células de tipo Th2, inhibiendo la generación de células Th1, por tanto promueve el desarrollo de la respuesta inmune humoral facilitando el crecimiento y diferenciación de linfocitos B y produciendo el cambio isotípico hacia IgE, por lo que esta citocina se ha relacionado con el desarrollo de procesos alérgicos (Basha et al., 2014).

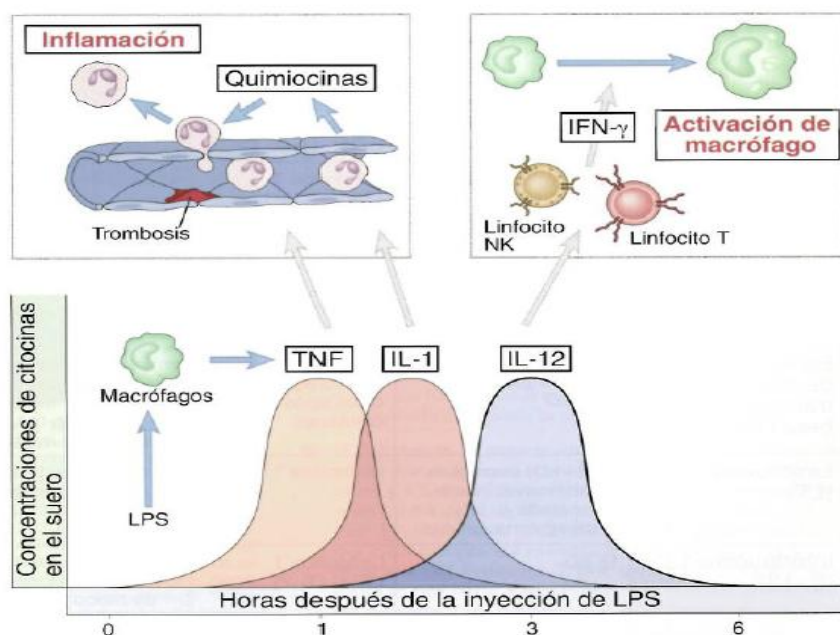


Fig.7. Funciones de las citocinas en la inmunidad innata frente a microorganismos.

Tomado de Immunology IV. Bellanti. Ed I Care 2012 Washington.

Cabe destacar que el sistema inmunológico del lactante tiene la particularidad de aprender a convivir con una estimulación antigénica continua, compleja y cuantiosa, partiendo de una inmadurez tanto del sistema inmunitario innato como del adaptativo.

1.3.2. Alimentación durante el primer año de vida

El periodo de lactancia es una etapa de desarrollo constante y de rápido crecimiento, lo que conlleva un aumento importante en los requerimientos nutricionales. Por tanto, es una etapa crítica, ya que déficits nutricionales pueden comprometer el correcto crecimiento y desarrollo del lactante.

Lactancia materna

Se denomina así a la alimentación del lactante con leche materna. La lactancia materna (LM), es un alimento único e insustituible (Butte et al., 1987), (WHO 2009).

La LM exclusiva durante los primeros seis meses de vida ofrece muchos beneficios tanto para el niño como para la madre, ayuda a establecer el vínculo afectivo materno-filial, y desempeña un doble papel único y exclusivo. Por un lado contiene todos los nutrientes necesarios como sustrato de energía para asegurar un correcto desarrollo del lactante, y por otro consta de nutrientes funcionales y factores bioactivos que ayudan al desarrollo del sistema inmune y maduración intestinal (Wagner, Anderson, & Pittard, 1996), (Wagner et al., 1996).

Así, la leche humana es catalogada, en base a la evidencia clínica, como el alimento idóneo en los primeros meses de vida (Butte et al., 1987), (Cunningham-Rundles et al., 2009), (WHO 2009).

Componentes nutricionales de la lactancia materna

La LM es un líquido corporal dinámico, es decir, su composición varía a lo largo de la toma, del día y del momento del desarrollo del lactante, de tal manera que la leche aporta los nutrientes y componentes específicos necesarios en cada etapa.

Se distinguen tres tipos de leche materna según su composición: calostro, leche de transición y leche madura (Axelsson & Råihä, 1992).

- **Calostro:** se produce en los primeros 4-6 días. Tiene mayor cantidad de proteínas, de las que predomina la inmunoglobulina A secretora (sIgA) (97%), seguida de lactoferrina. También contiene, vitaminas liposolubles, factor de crecimiento, lactobacilos, oligosacáridos, sodio y zinc. En concentraciones menores se encuentran grasas, lactosa y vitaminas hidrosolubles (Lønnerdal, 1997), (Critch, 2014). Su principal función es proporcionar las sustancias necesarias para el crecimiento, maduración del aparato digestivo y protección inmunitaria (W. A. Walker, 2004).
- **Leche de transición:** se inicia tras el calostro y dura 5-10 días. Tiene una composición intermedia entre el calostro y la leche madura. La cantidad de inmunoglobulinas, proteínas y vitaminas liposolubles es menor que en el calostro y hay un aumento del colesterol, fosfolípidos, y vitaminas hidrosolubles. También contiene mayor concentración en lactosa (Wagner et al., 1996).
- **Leche madura:** comienza su producción a partir del día 15 postparto. Tiene un perfil estable de sus diferentes componentes (Dewey, 2001). El 80% del total es agua. Sus principales componentes son:

Hidratos de carbono: el contenido total es de 7g/dL, constituyendo el 40-50% del aporte calórico total. La lactosa es el principal hidrato de carbono (90%), contiene también galactosa, fructosa y glucosamina (Andreas, Kampmann, & Mehring Le-Doare, 2015).

Ácidos grasos: el contenido lipídico de la leche humana es de 4-4,5 g/dL, Aporta el 50 % del contenido calórico y prácticamente el 99% son triglicéridos.

Proteínas: su contenido en la LM es de 0,8 a 3,5 g/dL (Butte 1984), lo que representa aproximadamente el 5% de la ingesta calórica. Se diferencian en dos categorías: proteínas del suero y caseínas. Las principales proteínas de la leche humana son del suero, que representa el 60-65% del total proteico. Su principal componente es la α lactoalbumina, siguiéndole la lactoferrina. Destaca la ausencia de β lactoalbumina, que predomina en la leche de vaca (Andreas et al., 2015), (Axelsson & Råihä, 1992).

El grupo de caseínas constituyen el 20 a 40% de la proteína total (Stam, Sauer, & Boehm, 2013). Las caseínas contribuyen al transporte de calcio, fósforo y aminoácidos (Garofalo & Goldman, 1998). En los primeros diez días postparto la leche humana

tiene una relación proteínas suero-caseína de 90/10, cambia a 60/40 hacia los 8 meses y se mantiene en 50/50 hasta el final (Garofalo & Goldman, 1998).

También se hallan aminoácidos, laminoazúcares y péptidos.

Oligoelementos, minerales y vitaminas: las vitaminas hidrosolubles y liposolubles están presentes en cantidad suficiente en la leche materna, con la excepción de la vitamina D y la vitamina K (Lönnerdal, 1997)

En cuanto a los minerales, el hierro está presente en concentraciones muy bajas en la leche humana (0,2 a 0,4 mg/L). Se podría decir que la leche materna es una fuente relativamente inadecuada de hierro. Sin embargo, el hierro que proviene de la leche materna se absorbe con una alta eficacia. Su biodisponibilidad es del 50% en comparación con el 4% de las fórmulas para lactantes y el 10% en la leche de vaca (Finkelstein, O'Brien, Abrams, & Zavaleta, 2013). Por tanto, aunque la concentración de hierro en la leche humana es baja está compensada por su elevada disponibilidad (Griffin & Abrams, 2001).

En la leche materna también están presentes el ácido fólico, la vitamina B 12, y el cinc, así como el selenio, flúor y magnesio (Rodríguez-Palmero, Koletzko, Kunz, & Jensen, 1999), (A S Goldman & Garza, 1987).

Componentes funcionales de la lactancia materna.

Aspectos inmunológicos.

La complejidad y la naturaleza dinámica de la LM están en sintonía con las necesidades del lactante, y tiene importantes implicaciones en el desarrollo del sistema inmunitario con un papel fundamental de sus componentes funcionales.

Los **oligosacáridos y los ácidos grasos poli-insaturados** se comportan como sustancias protectoras en la leche materna. Ambos estimulan la proliferación de bacterias colonizantes necesaria para activar el sistema inmunológico del RN. (Armond S Goldman, 2007), (Rodríguez-Palmero et al., 1999).

Las **proteínas del suero**, entre ellas la lactoferrina y la sIgA forman parte de la respuesta inmunitaria de la leche humana.

La IgAs funcionalmente, brinda protección inmunológica al evitar la adherencia de microorganismos a las superficies mucosas del aparato respiratorio y digestivo (W. A. Walker, 2004), (Armond S Goldman, 2007). La leche materna contiene sIgA específica frente a bacterias entéricas y respiratorias. Varios investigadores han demostrado que la capacidad antigénica de la IgAs depende de la exposición antigénica de la madre (Wagner et al., 1996), (Armond S Goldman, 2007). También se identifican pequeñas cantidades de IgG e IgM en LM (Chirico, Marzollo, Cortinovis, Fonte, & Gasparoni, 2008).

-Las **células** transferidas a través de la LM al RN, son linfocitos T y B, fundamentalmente linfocitos T (80%), también se transfieren células Natural Killer (NK), macrófagos y neutrófilos. Estas células aportan una protección activa con un importante papel en el sistema inmune inmaduro del RN (Garofalo & Goldman, 1998), (Armond S Goldman, 2007), (Calder et al., 2006), (Chirico et al., 2008).

-**Citocinas** La leche materna contiene tanto citocinas T_H2 , como IL-4, IL-5, e IL-13, como citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α (Garofalo & Goldman, 1998).

-**Hormonas:** en la leche humana se han encontrado factores de crecimiento, entre ellos los factores epidérmico de crecimiento (EGF) y transformante de crecimiento alfa y beta (TGF- α y TGF- β), (Garofalo & Goldman, 1998). Estos factores contribuyen a la maduración de la mucosa gastrointestinal, lo que dificultará la penetración de antígenos (W. A. Walker, 2004). Además TGF β -1 modifica directamente la inmunidad y la inflamación al suprimir la proliferación y al modular las actividades de los leucocitos. Además TGF β inhibe la síntesis de citocinas IL-1, IL-6 y TNF e induce la producción del antagonista del receptor IL-1 (IL1- R a), (Calder et al., 2006).

-Receptores de citocinas y antagonistas

La LM contiene agentes antiinflamatorios potentes como IL1-Ra, con niveles más elevados a los detectados en suero. También contiene cantidades notables de receptores I y II de TNF- α soluble (sTNF α , RI RII) (12). Se ha demostrado que IL-1 Ra compite normalmente con IL-1a e IL-2b por la unión a receptores (Wagner et al., 1996), (Andreas et al., 2015).

En resumen, el RN puede compensar su deficiencia inmunológica con la LM, la cual le aporta diferentes factores inmunitarios específicos e inespecíficos.

En la literatura queda ampliamente demostrado el efecto beneficioso de protección inmunitaria de la LM. (Kramer & Kakuma, 2012), (Quigley & McGuire, 2014), (WHO, 2002). La LM es el alimento idóneo para el lactante, no hay por el momento ningún preparado nutritivo que cubra todos los aspectos beneficiosos de la LM (WHO, 2007).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la alimentación exclusivamente con leche materna desde el nacimiento hasta los 6 meses de edad, y siempre que sea posible mantener la lactancia natural hasta que el niño cumpla los 2 años (Kramer & Kakuma, 2012), (WHO, 2012).

Lactancia artificial.

Las fórmulas adaptadas son fórmulas preparadas a partir de la leche de vaca, modificando, especialmente su contenido en proteínas y minerales (hierro y calcio), (Yip, 1994). Se recomiendan en aquellos casos en los que la LM es imposible o insuficiente. Fueron desarrolladas con el objetivo de reducir el extendido uso de la leche de vaca en los primeros meses de vida. En el año 1970 se observó que la alimentación con LM raramente era continuada más allá de los 6 meses de vida, y el uso de la leche de vaca en el primer año de vida inapropiado, ya que producía un desequilibrio nutricional, con una ingesta excesiva de proteínas y ácidos grasos saturados y una insuficiente ingesta de hierro, zinc y ácidos grasos polinsaturados (D. A. Cook, 1989), (Ziegler, 1990), (Abrams, 2015), (Lønnerdal, 1997). La introducción de leche de vaca durante el primer año de vida contribuía de forma importante al desarrollo de anemia ferropénica (Thorisdottir, Thorsdottir, & Palsson, 2011). Actualmente las fórmulas adaptadas tienen una composición estandarizada y controlada siguiendo las recomendaciones de los diferentes organismos internacionales como la ESGHAN (European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition), la OMS (Organización Mundial de la Salud) y UNICEF (United Nations International Children's Emergency Fund), con el fin de asegurar una

correcta nutrición y así asegurar un correcto desarrollo del lactante (Domellöf et al., 2014). Se diferencian dos tipos de fórmulas adaptadas: las denominadas *de inicio*, recomendadas para la alimentación del recién nacido hasta los 6 meses de vida siempre que la LM no sea posible, y las *de continuación* a partir de los 6 meses de vida. La composición es diferente para los distintos nutrientes y se adapta a los requerimientos del niño tomando como referencia la leche materna. Existe controversia respecto a la concentración de hierro necesaria para cubrir las necesidades del lactante. Así, hay autores que recomiendan una cantidad mínima de hierro, en base a la baja concentración de hierro de la LM, y otros que abogan por un aporte mayor, tomando como referencia los requerimientos de hierro en esta etapa (Calder et al., 2006), (Baker & Greer, 2010), (Domellöf et al., 2014).

La realidad es que en países industrializados, la prevalencia de ferropenia y de anemia ferropénica es baja en los primeros 6 meses de vida. La evidencia, resultado de los estudios de intervención realizados de 0-6 meses con suplementación de hierro frente a placebo, demuestra un aumento de ferritina sérica a los 6 meses, sin diferencias significativas respecto a la incidencia de anemia ferropénica (Tuthill et al., 2002), (Schroth, Levi, Kliewer, Friel, & Moffatt, 2013), (Qasem, Fenton, & Friel, 2015), (Hernell et al., 2015). La mayoría de leches de continuación en el mercado europeo tienen una concentración de hierro entre 4-8 mg/L. La ESGHAN, recomienda el enriquecimiento con hierro de las fórmulas de inicio en el límite bajo (2-8,5 mg/L), (S. Berglund & Domellöf, 2014). A partir de los 6 meses hay un aumento de los requerimientos de hierro y una disminución importante del hierro de la reserva neonatal. Por tanto, es necesario un aporte mayor de hierro y es por eso que se recomienda la alimentación con una fórmula de continuación con un mayor contenido en hierro. Son varios los autores que demuestran una disminución de la incidencia de ferropenia a los 12 meses tras la alimentación con fórmulas altamente enriquecidas de hierro frente a placebo o fórmulas con menor contenido de hierro (Stevens, 1998), (Walter et al., 1993), (Moya-Alvarez et al., 2015), (Daly et al., 1996). En base a esta evidencia, las directivas europeas recomiendan el enriquecimiento de las fórmulas de continuación con 3,6 a 14 mg/dl (European commission Directive 2006/141/EC on

infant formulae and follow on formulae. Official J Eur Union 2006 (401):1-33. Recientemente un comité de expertos recomendó valores más altos de la cantidad mínima de hierro, de 6,6 a 13,3 mg/dL (Suthutvoravut et al., 2015), aunque esta recomendación no varía la práctica habitual, ya que la mayoría de leches de continuación en el mercado europeo contienen una concentración de hierro entre 10-12 mg/L. Sin embargo, actualmente no hay evidencia de la concentración de hierro correcta con la que suplementar las fórmulas adaptadas de continuación. Tampoco se tiene evidencia de que la fortificación con dosis altas sea perjudicial. Las recomendaciones actuales son la suplementación con hierro de forma universal, aunque la evidencia no muestra beneficios claros en la salud de poblaciones con baja prevalencia de AF (S. Berglund & Domellöf, 2014).

Alimentación complementaria

Alimentación complementaria, alimentación adicional y alimentos beikost, son términos sinónimos que hacen referencia a los alimentos que recibe un lactante durante el primer año de vida, distintos a LM y a la fórmula adaptada (LA). No hay suficiente evidencia científica del momento en que deben introducirse la alimentación complementaria. Por lo general, hay consenso en que no debe introducirse antes de los 4 meses de vida y que no debe retrasarse más allá de los 6 meses de vida, ya que exclusivamente con leche el lactante no puede ingerir la cantidad suficiente de vitaminas, oligoelementos y minerales para cubrir las necesidades energéticas.

La OMS, recomienda iniciar la alimentación complementaria entre los 4-6 meses con pequeñas cantidades de alimentos, y aumentarlas gradualmente a medida que el niño va creciendo (WHO. 2002), La ESGHAN recomienda la alimentación complementaria enriquecida con hierro a partir de los 6 meses de vida (Kramer & Kakuma, 2012), (Domellöf et al., 2014).

1.4. Regulación del metabolismo del hierro.

El mantenimiento de la homeostasis del hierro es esencial para el organismo. (Lash & Saleem), (Lieu, Heiskala, Peterson, & Yang), (Eisenstein & Blemings, 1998). En los últimos años se ha avanzado mucho en este campo, es una regulación compleja, aunque en la actualidad simplificando esquemas, es posible decir que el metabolismo del hierro es regulado fundamentalmente por dos proteínas: **ferroportina y hepcidina** (fig. 10), (Pigeon et al., 2001), (Nemeth et al., 2004), (Houamel et al., 2015).

La reciente identificación y aislamiento de estas dos proteínas ha llevado inevitablemente a la modificación de los modelos clásicos de regulación de la homeostasis de este mineral, con la descripción de un papel relevante de determinadas citocinas, estrechándose así la relación entre sistema inmunitario y el metabolismo de hierro.

1.4.1. Hecpidina

La Hecpidina es una proteína que inhibe tanto la absorción de hierro como su liberación de los macrófagos (Tomas Ganz, 2005), (Tomas Ganz & Nemeth, 2012), (Tomas Ganz, 2013). La hepcidina ejerce su función ligada a la ferroportina 1 de la membrana basolateral del enterocito. Así, la hepcidina limita la disponibilidad de hierro mediante la internalización y degradación de la ferroportina 1 (Nemeth et al., 2004), (Ganz & Nemeth, 2011). Actualmente, la hepcidina es considerada el regulador central del metabolismo del hierro (Ganz, 2012), (Nemeth & Ganz, 2009), (Kim & Nemeth, 2015), siendo el eje hepcidina-ferroportina la pieza primordial de la homeostasis de este mineral (Arezes et al., 2015).

La hepcidina es codificada por el gen HAMP localizado en el cromosoma 19. Este gen codifica un pro-péptido de 84 aminoácidos del que por acción enzimática derivan las formas con 20, 22 y 25 aminoácidos, siendo la forma bioactiva el péptido de 25 aminoácidos estabilizado por cuatro puentes disulfuros (fig.9), (Park, Valore, Waring, & Ganz, 2001), (Muckenthaler, Galy, & Hentze, 2008). Es producida en el hígado, circula por el plasma y es excretada por la orina.

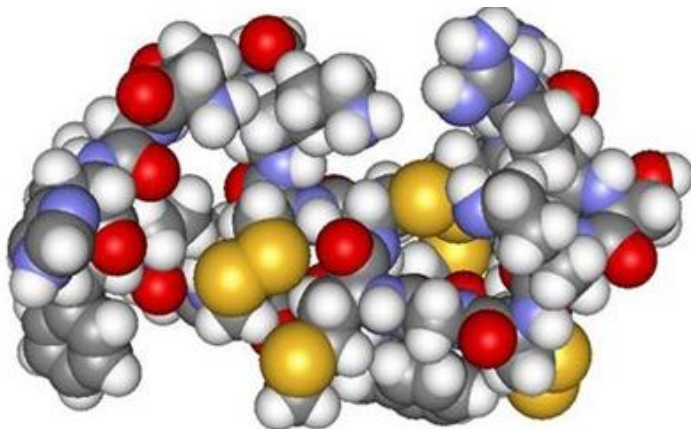


Fig.8. Modelo de estructura de la hepcidina El patrón de puentes di sulfuro se representa en color azul, la secuencia aminoacídica mediante amarillo. Tomado de: Ganz T (Blood 2003; 102:783-8).

La Hepsidina fue descrita por primera vez, y prácticamente al mismo tiempo, por dos grupos de investigadores independientes. Krause et al. en el año 2000, la identificaron en orina y plasma en la búsqueda de péptidos antimicrobianos y la denominaron por sus siglas en inglés LEAP-1 (liver expressed antimicrobial peptide 1,), (Krause et al., 2000). El grupo de Ganz descubrió este péptido asociado con la inflamación y lo llamaron “*hepcidina*”, tras observar que era producido en hígado (“*hep-*”) y que parecía tener propiedades bactericidas (“*-cidina*”), (Park, Valore, Waring, & Ganz, 2001). Posteriormente, la hepcidina fue relacionada con el metabolismo del hierro (Nicolas, Kahn, & Vaulont, 2003) y con el desarrollo de enfermedades genéticas como la hemocromatosis juvenil (Park, Valore, Waring, & Ganz, 2001), (Pigeon et al., 2001). Ambas proteínas, hepcidina y hemojuvelina, son muy importantes en la homeostasis del hierro (Sun, Vaja, Babitt, & Lin, 2012), (Roetto et al., 2003). En la actualidad, la hepcidina se considera la piedra angular en la regulación del metabolismo del hierro (Rishi et al., 2015). Actúa como regulador negativo de las reservas de hierro, limitando la cantidad de este mineral mediante la inhibición de la ferroportina, con su internalización en la célula y degradación en los lisosomas (T.Ganz, 2006).

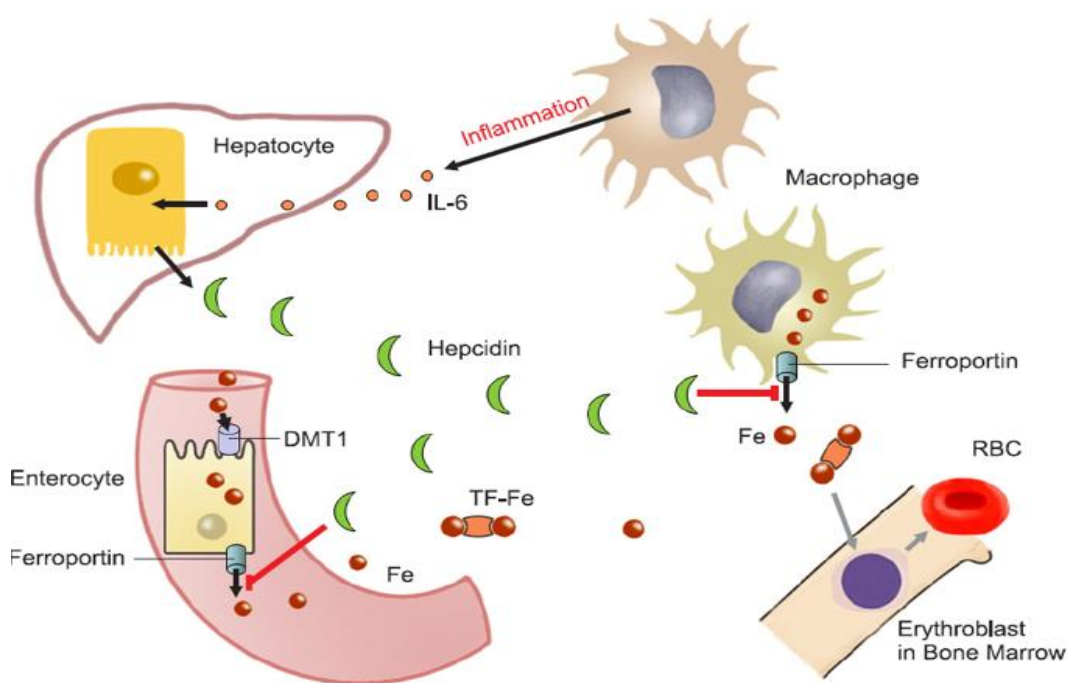


Fig. 9 Esquema de la regulación del metabolismo del hierro bajo el estímulo inflamatorio. Tomado de Blood Res 2013; 48:11

En términos simples, la hepcidina, actúa controlando la absorción intestinal y la reutilización del hierro por SRE. Así, un aumento de hepcidina produce disminución de hierro sérico, mediante la inhibición de la absorción intestinal del hierro y el secuestro de hierro por el SER. (T. Ganz, 2006), (Tomas Ganz & Nemeth, 2015), mientras que la disminución de hepcidina provoca el efecto contrario, aumento de la absorción de hierro y liberación de éste desde los macrófagos (Rishi et al., 2015). Fig. 9. La concentración de hepcidina fluctúa en respuesta a las necesidades de hierro del organismo. Fundamentalmente los niveles de hepcidina varían en función de cinco factores: las reservas de hierro sérico, la actividad eritropoyética, la concentración de hemoglobina, la hipoxia, y la presencia de citocinas inflamatorias (fig.9). Alguno de estos factores pueden actuar conjuntamente y en ocasiones están interrelacionados (McKie et al., 2000), (Nancy C Andrews, 2004).

1.4.2. Células implicadas en la regulación del metabolismo del hierro

Las células principales que determinan el contenido de hierro en el organismo son: los **enterocitos** del duodeno (participan en la absorción de hierro), los precursores eritroides (utilizan el hierro), los **macrófagos** del SRE (almacenan y reciclan el hierro) y los **hepatocitos** (actúan como reserva de hierro y en la regulación hormonal), (Fleming & Bacon, 2005), (Fleming & Ponka, 2012). Cada una de estas células tiene un papel primordial en la homeostasis del hierro (Fig.10). Los precursores eritroides son los mayores utilizadores de hierro. Estas células expresan altas concentraciones de receptor de transferrina. Los **macrófagos** representan el mayor compartimento dinámico de hierro. Obtienen hierro procedente de la fagocitosis de eritrocitos senescentes y, tras la liberación del grupo *Hem*, es almacenado como ferritina o liberado a la circulación (Tomas Ganz, 2013). Tanto los macrófagos como los hepatocitos son una importante reserva de hierro (Loréal et al., 2014).

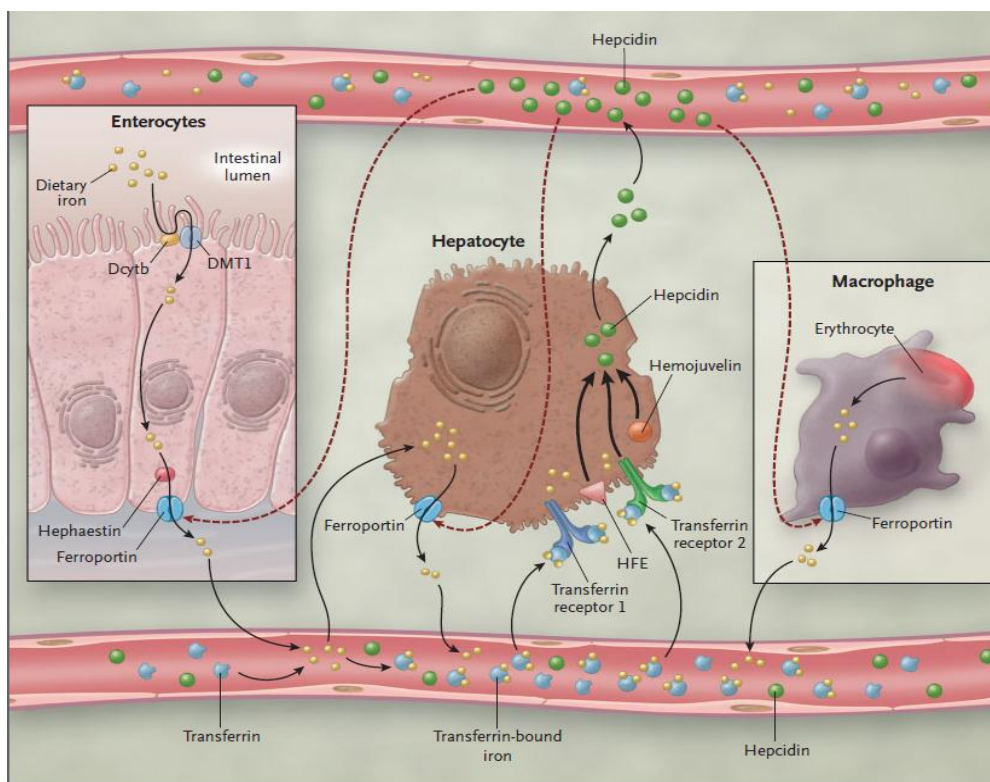


Fig.10. Células implicadas en la homeostasis del hierro.
Tomada de N Engl J Med 2004; 350, (23) 2384.

1.4.3. Alteraciones del metabolismo del Hierro.

Las alteraciones en el metabolismo del hierro, tanto por defecto como por exceso, son enfermedades muy prevalentes (Bonkovsky, 1991), (Hercberg, Preziosi, & Galan, 2001), (Muñoz et al., 2009). Algunas tienen su origen en una deficiencia, ocasionada por un desequilibrio entre el aporte y las pérdidas y/o necesidades, mientras que otras se producen por una sobrecarga, como consecuencia del aumento del aporte (por ejemplo, por transfusiones sanguíneas repetidas) o debido a una alteración en la absorción de hierro (Pietrangelo, 2004). Por tanto, la alteración del balance de hierro en el organismo puede tener dos consecuencias diferentes según el balance sea negativo o positivo. Si es negativo, disminuyen las reservas de hierro y el hierro sérico, dando lugar a un estado de **ferropenia** y alteración en la síntesis de hemoglobina, ocasionando una anemia microcítica e hipocroma. Si es positivo aparecen signos de intoxicación y lesiones parenquimatosas por sobrecarga, como en el caso de la **hemocromatosis** (Bridle et al., 2003), (Nancy C Andrews, 2012).

En el adulto se ha observado que muchas de las alteraciones en el metabolismo del hierro se deben a modificaciones en la producción de hepcidina (Ganz & Nemeth, 2011), (Nancy C Andrews, 2012). Así, la anemia de enfermedades crónicas es un proceso multifactorial que puede explicarse claramente por el aumento de la producción de hepcidina en respuesta a un proceso inflamatorio con producción de citocinas pro-inflamatorias. Mientrás que en la hemocromatosis existe una disminución de la producción de hepcidina como resultado de alteraciones genéticas con un incremento de la absorción de hierro (fig.11).

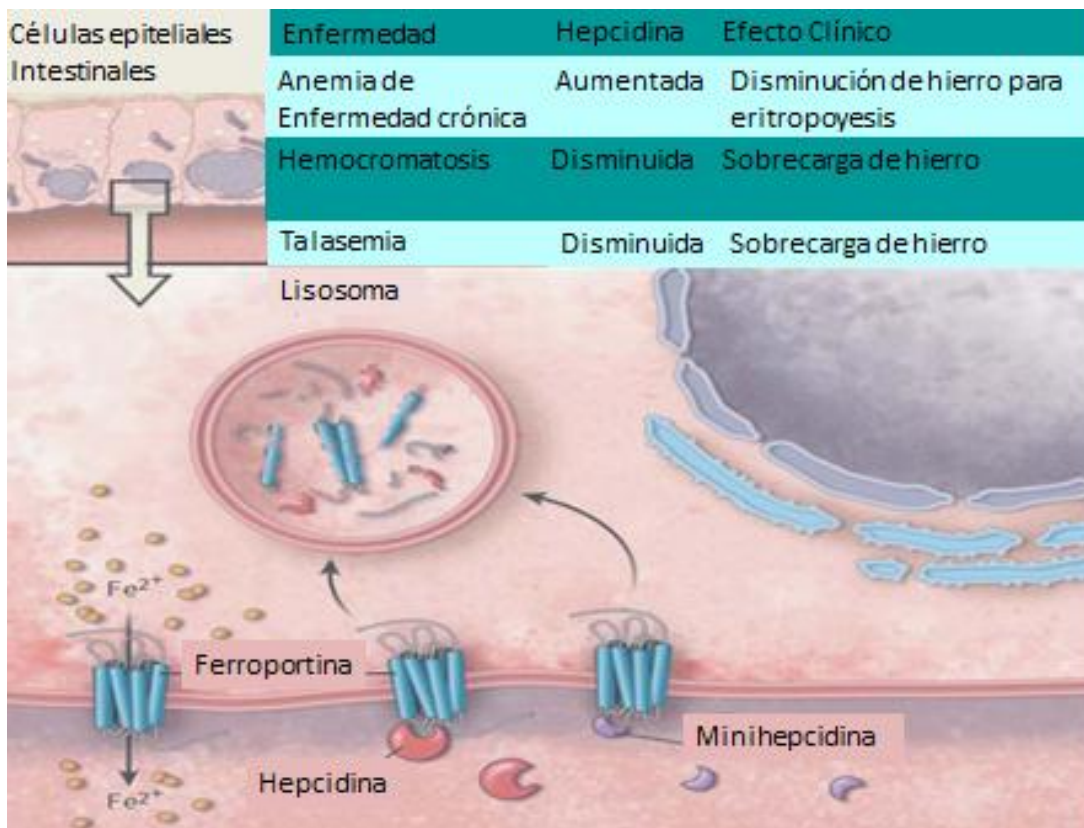


Fig.11 Alteraciones de la Hepcidina implicadas Homeostasis del hierro.
 Adaptada de N Engl J Med 2012; 366, (26) 377.

i. Alteraciones por exceso:

- Sobrecarga de hierro.

Son trastornos con una prevalencia elevada (E. M. Walker, Wolfe, Norton, Walker, & Jones), (Nancy C Andrews, 2012), (Enko et al., 2015). Aranda et al. en una población en Cataluña objetivan que un 25% de la población presenta algún tipo de sobrecarga de hierro y hasta el 46% de la población presenta alguna tipo de mutación en el gen hemocromatosis (HFE) (Ribot, Aranda, & Arija).

- Hemocromatosis

Es una enfermedad genética que se asocia a mutaciones en el gen HFE localizado en el cromosoma 6, que inducen la expresión de hepcidina. Esta alteración genética provoca un desorden en la producción de la hepcidina, que resulta ineficaz (Pietrangelo, 2004), dando lugar a una continua absorción del hierro de la dieta y, en

consecuencia, a una sobrecarga de hierro en el organismo que conduce a daño titular, fibrosis y disfunción de los órganos afectados (Adams, Barton, Guo, Alter, & Speechley), fundamentalmente hígado, páncreas y corazón. Clínicamente se manifiesta con somnolencia, astenia, artralgias, clínica gastrointestinal, dolor abdominal, y en estadios avanzados alteración de la función hepática y pancreática con el desarrollo de diabetes e insuficiencia hepática, así como de insuficiencia cardíaca (Waalén & Beutler, 2006).

El diagnóstico de sospecha se realiza por la clínica, los hallazgos en la exploración física (ictericia, hepatomegalia, esplenomegalia) y por la presencia de un aumento de los depósitos de hierro (ferritina sérica elevada). El diagnóstico de confirmación se lleva a cabo mediante el estudio genético de las mutaciones y la biopsia hepática (Loréal et al., 2014), (Pietrangelo, 2010).

ii. Alteraciones por defecto. Ferropenia. Anemia.

Ferropenia o deficiencia de hierro. En la edad infantil es el resultado de uno de los siguientes factores o de su combinación: aporte insuficiente (por dieta inadecuada), aumento de las necesidades (lactancia), (Aaron, Dror, & Yang, 2015), (Lieu, Heiskala, Peterson, & Yang), pérdidas excesivas (hemorragia, parasitosis, etc.), déficit de absorción y/o alteración del transporte. En niños es considerada la deficiencia nutricional más prevalente (Daly et al., 1996), (Vázquez López et al., 2001), (S. Berglund & Domellöf, 2014). Los lactantes son uno de los principales grupos de riesgo para la deficiencia de hierro y anemia ferropénica (Blot & Vovor, 1989), (Ballin et al., 1992), (Scholl, Hediger, Fischer, & Shearer, 1992), (WHO, 2004), (S. Berglund & Domellöf, 2014).

La ferropenia se considera un importante problema de salud pública, sobre todo en la población infantil en países en desarrollo, donde una gran parte de la población sigue dietas muy deficientes en hierro, con contenido alto de cereales y bajo de proteínas animales (DeMaeyer & Adiels-Tegman, 1985), (Adish, Esrey, Gyorkos, & Johns, 1999). En estas regiones la prevalencia de ferropenia puede alcanzar hasta un 91,2% de la población (Thompson, Biggs, & Pasricha, 2013). Al igual que la

prevalencia de anemia, la prevalencia de ferropenia es menor en los países de elevado nivel económico como los Estados Unidos, Japón y Europa (J. D. Cook & Finch, 1979),(Dallman, Yip, & Johnson, 1984), (Singh et al., 2006), (who 2002), (Moráis López & Dalmau Serra, 2011), con una prevalencia que varía del 7% al 29% (Hercberg et al., 2001) ,(Hurley, & Pepper, 2011) (Leung & Chan, 2001),(M. M. Black et al., 2011), (Scott, Chen-Edinboro, Caulfield, & Murray-Kolb, 2014), Respecto a la prevalencia de ferropenia en lactantes europeos varia de 5-20% (De-Regil, Suchdev, Vist, Walleser, & Peña-Rosas, 2011),(Hercberg et al., 2001),(Male et al., 2001). En nuestro medio, en la ciudad de Reus se ha descrito una prevalencia de ferropenia en lactantes del 23% y de anemia del 13,1% (Arija, Salas, Fernández-Ballart, & Marti-Henneberg, 1990).

Anemia.

La anemia se define como la disminución de la concentración de hemoglobina por debajo de los límites establecidos como normales. En la práctica, la OMS recomienda considerar anemia, en los adultos, cuando la concentración de hemoglobina es inferior a 13,0 g/dL en el varón o inferior a 12,0 g/dL en la mujer. En los niños este criterio varía según la edad (por debajo de 2 DS de la media para la edad) de forma que, desde los 6 meses hasta los 6 años, el límite inferior de la hemoglobina es de 11,0 g/dL y, entre 6 y 14 años, es de 12,0 g/dL (WHO/UNICEF, 2001). Tabla.6.

Edad	Hemoglobina(g/dL)
6 meses- 6 años	11
6 años -14 años	12
Adulto varón	13
Adulto hembra	12

Tabla. 6. Valores de la concentración de hemoglobina en función de la edad.

Adaptado de WHO/UNICEF/UNU, 2001.

En la infancia la causa más frecuente de anemia es la ferropenia, seguida por la anemia de los trastornos crónicos (Looker jama 1997). La OMS calcula que en el mundo hay aproximadamente un total de 2 billones de personas anémicas, y que

cerca del 50% de los casos pueden atribuirse a la deficiencia en hierro (WHO/UNICEF, 2001). Otro tipo de anemia que puede tener importancia en áreas endémicas de malaria es la anemia hemolítica.

• **Anemia ferropénica**

Se define como el descenso de la concentración de hemoglobina en sangre secundario a una disminución de las reservas de hierro en el organismo. Se estima que afecta a un 20-30% de la población general (Oppenheimer, 2001) 2001), (Barón, Solano, Peña, & Del Real, 2005),(DeMaeyer & Adiels-Tegman, 1985), (Pasricha et al., 2014), (Atkinson, Bayne, Gordeuk, Brittenham, & Aikawa, 1991), (Hercberg, Preziosi, & Galan, 2001),(WHO,2005),(S. Berglund & Domellöf, 2014), (Lopez, Cacoub, Macdougall, & Peyrin-Biroulet, 2015), (WHO,2007). Es evidente que los factores socio-económicos influyen en la salud y nutrición de la población. Así, la prevalencia de anemia es mayor en los países subdesarrollados alcanzando cifras del 50-80%(R. E. Black et al., 2013), (M. M. Black et al., 2011), (Kassebaum et al., 2013).

La ferropenia es la causa más frecuente de anemia en el mundo (Desforges & Oski, 1993), (Walter et al., 1993) (Hay, Sandstad, Whitelaw, & Borch-lohnsen, 2004), (S. Berglund & Domellöf, 2014). En los últimos años se ha registrado una disminución en la prevalencia global, en 1990 la prevalencia era de 40,2% y en 2010 de 32,9% en población general (Kassebaum et al., 2013). Respecto a población infantil, la Organización Mundial de la Salud y UNICEF estiman que el 40-50% de los niños menores de 5 años en áreas subdesarrolladas presentan anemia (WHO, 2007). Globalmente se estima una prevalencia del 25% en niños prescolares (MacLean E, 2009). En niños europeos, la prevalencia de AF es menor al 2% antes de los 6 meses, del 3% de los 6 a 9 meses y del 3 a 9% de 1 a 3 años (Hercberg et al., 2001), (Hay et al., 2004).

La evolución de la anemia por deficiencia de hierro es progresiva y se desarrolla en varias etapas sucesivas, en el orden expuesto a continuación:

-Ferropenia pre-latente: en la que se produce una reducción progresiva en los depósitos de hierro. El agotamiento del hierro almacenado puede evidenciarse por una disminución de la ferritina sérica. No obstante, la cantidad de hierro disponible es aún suficiente para mantener una eritropoyesis correcta y no se producen manifestaciones clínicas (Sadowitz & Oski, 1983), (D. A. Cook, 1989), (Wharton, 1999).

-Ferropenia latente: también llamada eritropoyesis deficiente o eritropoyesis ferropénica. Si la deficiencia de hierro se mantiene, desciende la concentración de este metal en sangre y su proteína transportadora, la transferrina, deja de estar saturada (Sadowitz & Oski, 1983), (D. A. Cook, 1989), (Wharton, 1999). Comienza el deterioro del aporte de hierro a la médula ósea y se altera la eritropoyesis. Sin embargo, la síntesis de hemoglobina se mantiene dentro de la normalidad.

-Ferropenia manifiesta o anemia ferropénica: cuando la ferropenia está muy desarrollada y ya no se dispone de hierro suficiente para mantener la producción normal de hemoglobina, dando lugar a la aparición de anemia microcítica-hipocroma (Sadowitz & Oski, 1983), (Beaton, Corey, & Steele, 1989), (Wharton, 1999).

- **Anemia de los trastornos crónicos.**

La anemia de los trastornos crónicos se define clásicamente como la anemia asociada a infecciones crónicas, procesos inflamatorios, traumáticos o neoplasias y cursa con alteraciones características en el metabolismo del hierro, (Cartwright & Lee, 1971), (Garrido et al., 2015), (Besa, Kim, & Haurani, 2000), (Nemeth et al., 2004). Por su elevada frecuencia es considerada la segunda causa de anemia en la población infantil, después de la anemia ferropénica (abshire y reeves 1983), (Means, 1999). En la inflamación de cualquier grado aumentan varias proteínas como fibrinógeno, haptoglobina, lactoferrina, α 1- antitripsina y PCR. Esta reacción inflamatoria es mediada por algunas citocinas como la IL-1 y el TNF- α , (Garlanda et al., 2013). La proteína C reactiva (PCR), es la primera proteína que aumenta en las primeras 6-10 horas de la inflamación. En comparación con otras proteínas de fase aguda, la PCR llega a niveles muy altos y tiene una vida media mucho más breve. Las otras proteínas como fibrinógeno y haptoglobina aumentan con mayor lentitud y alcanza cifras menos elevadas, en comparación con la PCR (Osterholm & Georgieff, 2015).

En población adulta la anemia de enfermedades crónicas ha sido muy estudiada con importantes avances en su etiopatogenia en los últimos años (Nemeth et al., 2004), (João Arezes et al., 2015). Fue 1932 cuando Locke y cols. establecieron la asociación de anemia e infección explicando el frecuente hallazgo de anemia en pacientes con infección crónica (A G N, 1932).

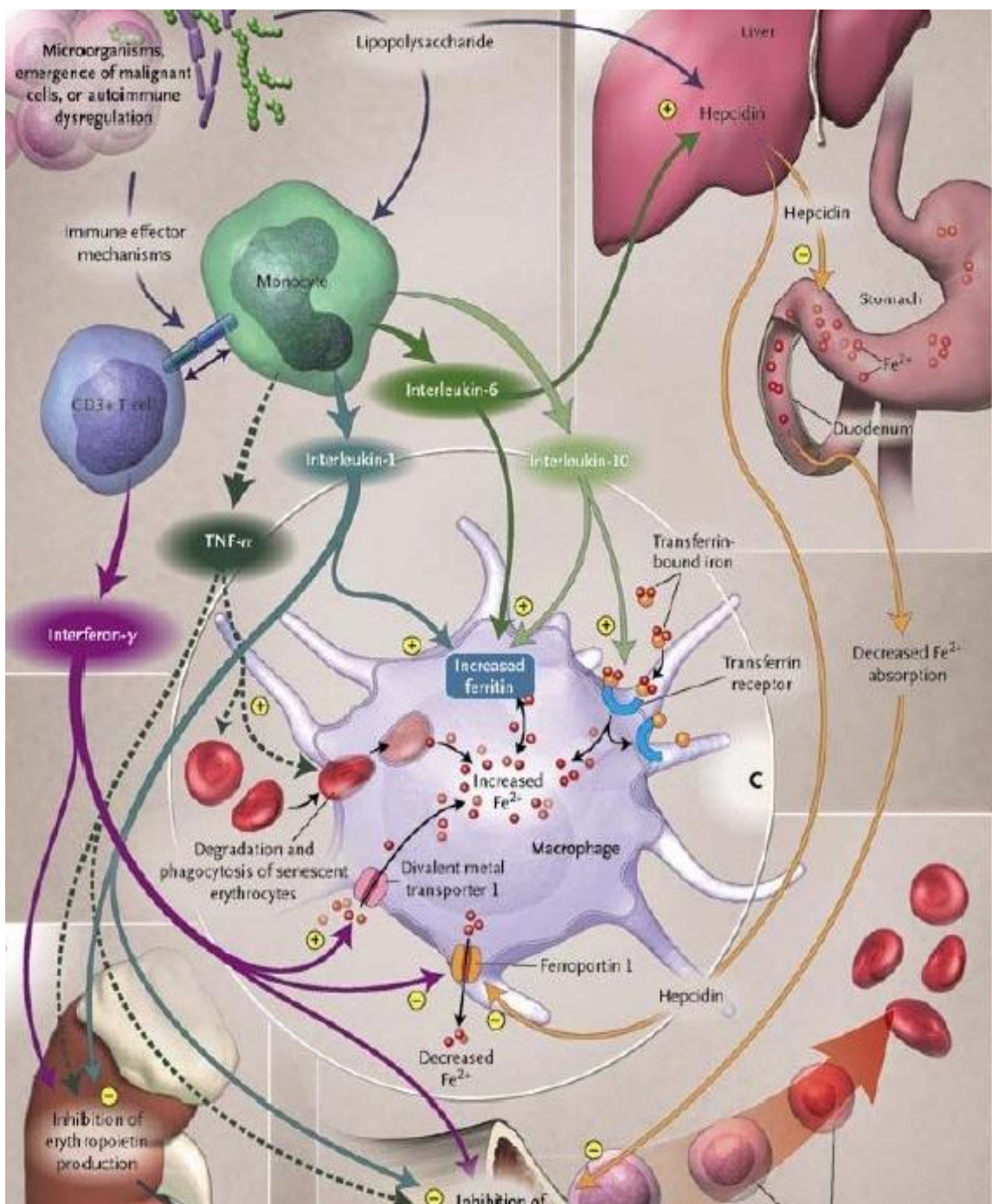


Fig. 12. Etiopatogenia de la anèmia de la malaltia crònica. Ante un estímul inflamatori (invasió de microorganismes, cèl·lules tumorals o malaltia autoimmunità), Se activen les Cèl·lules T CD3 i monocitos e inicien la resposta immunitària produint citocines INF- γ , FNT- α , IL-1, IL-6, e IL-10, que donen lloc a un increment de hepcidina amb redistribució del ferro cap als dipòsits amb augment de ferritina i disminució de ferro sèric, limitant la disponibilitat de ferro per a l'eritropoyesis.

Tomada de N Engl J Med. 2005; 352:1011-23

Cartwright et al. mostraron que la anemia asociada a la infección era indistinguible de la anemia de la inflamación y establecieron la ferropenia como consecuencia del secuestro de hierro por el sistema retículo-endotelial y la limitación de absorción de hierro intestinal (Cartwright & Lee, 1971). Otros autores posteriormente, relacionaron la anemia con la liberación de citocinas inflamatorias y describieron cambios en el metabolismo del hierro en relación a estas citocinas (Ludwiczek, Aigner, Theurl, & Weiss, 2003), (Nairz et al., 2013). Cualquier proceso crónico es capaz de producir anemia por interferir en la disponibilidad del hierro, al impedir su liberación de los lugares donde se halla almacenado (Cazzola, 2008) dando como consecuencia una disminución del hierro circulante en plasma, de la transferrina y de su saturación, con niveles de ferritina y depósitos corporales de hierro repletos (Feelders, Vreugdenhil, van Dijk, Swaak, & van Eijk, 1993), (Zoli et al., 1994). La ferropenia es importante en la patogenia de la anemia de la inflamación. La magnitud de la supresión de hierro es evidente y se objetiva en el término de las primeras 24 horas de la infección (Cartwright & Lee, 1971) y es considerada una respuesta del sistema inmune innato, que de esta forma contribuye a disminuir la disponibilidad de hierro circulante, evitando así su utilización por el microorganismo responsable de la infección. La gravedad de esta anemia se correlaciona con la actividad de la enfermedad subyacente (Biesma, Van de Wiel, Beguin, Kraaijenhagen, & Marx, 1995).

Recientemente, los importantes avances en la regulación del metabolismo del hierro han demostrado una marcada influencia del sistema inmunitario en el metabolismo del hierro.

Así, en estudios experimentales ha sido demostrada una importante implicación en la homeostasis del hierro de ciertas citocinas, como el interferón gamma (INF - γ), IL-6, IL-4 e IL-10, de genes (Alteraciones en el gen HFE) y de proteínas como el transportador apical metal divalente 1, DMT-1, y de la hepcidina (Guenter Weiss & Goodnough, 2005), (Jansson, Kling, & Dallman).

La Hepcidina ha sido el gran descubrimiento que ha permitido vincular el metabolismo del hierro con el sistema inmunitario. Se trata de una proteína de fase aguda tipo II responsable de la depleción de hierro asociada a la infección e inflamación (Park et al., 2001). La hepcidina aumenta ante el estímulo de citocinas inflamatorias,

dando lugar a ferropenia y a la anemia asociada a los síndromes inflamatorios, infecciosos y tumorales que es conocida como anemia inflamatoria crónica (Guenter Weiss & Goodnough, 2005), (Koenig, Tussing-Humphreys, Day, Cadwell, & Nemeth, 2014). La privación de hierro es utilizada para controlar el proceso infeccioso (Tomas Ganz, 2012). La relación entre el metabolismo del hierro, inmunidad innata e infección ha sido mejor entendida en el contexto de la acción de la hepcidina. De tal manera, la hepcidina se comporta como un mediador de la inmunidad innata en respuesta al estímulo inflamatorio mediado por citocinas, dando lugar a una redistribución del hierro hacia los órganos de depósito (Günter Weiss, 2009), lo que determina el aumento de la ferritina e hiposideremia, característicos de la respuesta de fase aguda y de la anemia de los trastornos crónicos (Walter, Olivares, Pizarro, & Muñoz, 1997), (Jansson et al.).

Respecto a las citocinas implicadas, la IL-6 ha sido descrita por varios autores como una citocina proinflamatoria capaz de estimular la secreción de hepcidina en estados inflamatorios (Nemeth & Ganz, 2014). También se ha relacionado el aumento de hepcidina con niveles elevados de TNF e IL-1, (Walter et al., 1997). En la figura 12, se describe la participación del sistema inmunitario a través de las diferentes citocinas en la anemia inflamatoria. Mediante la IL-6 o bien directamente mediante LPS que estimula la liberación de hepcidina por el hepatocito, con inhibición de la absorción de hierro en el intestino. Además, tanto el INF como LPS estimulan la secreción de DMT-1 por los macrófagos estimulando el secuestro de hierro por estas células. (Kühn, 2015). El TNF, la IL-10 IL-1 e IL-6 inducen expresión de ferritina y promueven el almacenamiento de hierro en el macrófago (Prentice et al., 2012), (Tomas Ganz, 2012). Este mecanismo limita la disponibilidad de Fe para la eritropoyesis, además el TNF inhibe la producción de eritropoyetina por el riñón, y el TNF, el INF y la IL-1 inhiben directamente la diferenciación y proliferación de precursores de eritroides, y todo ello da lugar a la anemia inflamatoria (Guenter Weiss & Goodnough, 2005).

En niños la anemia asociada a procesos inflamatorios de niños no se reconoció hasta el informe de Abshire y Reeves en 1983. Estos autores describieron que un 78% de los niños incluidos en el estudio y que presentaban signos de inflamación moderada a intensa de aproximadamente 5 días de duración (media 1,5), la mayoría un proceso infeccioso agudo, asociaban una anemia leve (Hb.10-11g/L). La resolución de la inflamación produjo un incremento de la cifra de Hb de 2,4 g/l. (Abshire & Reeves, 1983). Posteriormente otros investigadores, han demostrado la asociación de procesos infecciosos y anemia (Corrigan, 1981). Por tanto, existe evidencia científica de la asociación entre procesos inflamatorios e infecciosos y anemia en niños. Sin embargo, la mayoría de estudios al respecto, han demostrado esta relación en pacientes hospitalizados y con infecciones agudas moderadas y graves. Fueron Reeves y col. quienes identificaron también por primera vez que infecciones leves también causaban anemia. Estos autores describieron que los sujetos que habían sufrido infecciones leves en un intervalo de tres meses tuvieron cifras de hemoglobina y concentraciones hierro menores, con un incremento de la ferritina sérica respecto a los sujetos sin procesos infecciosos (Reeves, Yip, Kiley, & Dallman, 1984). Otros investigadores han destacado la interrelación entre infecciones leves y anemia. Así, Jansson y colaboradores estudiaron un gran grupo de prescolares y escolares, y descubrieron que la anemia leve se relacionaba con infecciones de vías respiratorias y episodios de fiebre duradera (Jansson et al.), Olivares y colaboradores en 1989, observaron que un 25% de los lactantes a los que se le administra vacuna con virus vivos atenuados de sarampión tuvieron una concentración menor de hemoglobina a las 1,5-2 semanas tras la inmunización, objetivándose en el estudio del hierro valores similares a los descritos en otros estados de inflamación (disminución hierro sérico y aumento de la ferritina sérica (Olivares, Walter, Osorio, Chadud, & Schlesinger, 1989)

Por tanto, hay evidencia de que infecciones leves alteran significativamente la concentración de hemoglobina.

El mejor conocimiento sobre la fisiopatología de la anemia de enfermedad crónica en adultos ha permitido extrapolar y estudiar los resultados obtenidos en población infantil. Así, recientemente se ha estudiado el papel de la hepcidina y su relación con la anemia inflamatoria en niños. La mayoría de estudios incluyen niños con infecciones graves que han requerido hospitalización, infección por malaria o patología crónica como la obesidad y la enfermedad renal (Leung & Chan, 2001) demostrándose la relación entre hepcidina y anemia inflamatoria crónica en población infantil.

1.5 Diagnóstico y estudio de la anemia.

No hay una prueba única de cribado que sirva de "patrón oro" para la detección de la anemia ferropénica. En la actualidad contamos con magnitudes que permiten detectar la anemia ferropénica de forma relativamente sencilla (Beaton, Corey, & Steele, 1989). Sin embargo, no hay ningún test de laboratorio que sea capaz por sí sólo de identificar correctamente la deficiencia de hierro, teniéndose que recurrir a la determinación combinada de varios parámetros (P. R. Dallman, 1981).

A continuación se muestran las magnitudes que nos permiten valorar la deficiencia de hierro y anemia en los diferentes compartimentos:

- *Compartimento funcional:* Hemoglobina (Hb), Hemoglobina corpuscular media (HCM), Volumen corpuscular medio (VCM).
- *Compartimento de reserva:* Ferritina sérica
- *Compartimento de transporte:* Hierro sérico, Transferrina (Tfr), Protoporfirina eritrocitaria libre (PEL).

La detección y el estudio inicial de la anemia se basan en el perfil hematológico básico. Este perfil consiste en 3 pruebas básicas: hemograma, examen morfológico del frotis sanguíneo y recuento de reticulocitos (Jain & Kamat, 2009), (Janus & Moerschel, 2010).

El hemograma informa de la concentración de hemoglobina, hematócrito y recuento de hematíes, y también de los llamados índices eritrocitarios secundarios: VCM, hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH), (Jain & Kamat, 2009).

La hemoglobina es el componente mayoritario de los eritrocitos maduros y su función principal en el organismo es la oxigenación de los tejidos. Estructuralmente, es una proteína de 68 kDa, formada por cuatro cadenas de globina y cuatro grupos *hem*. Cada cadena está unida a un grupo *hem* mediante enlace no-covalente y entre las cuatro organizan un tetrámero que coordina un átomo de hierro. La determinación de la concentración de **hemoglobina** es uno de los procedimientos más fiables de los que se dispone para el diagnóstico de anemia. Incluso se ha propuesto utilizar la concentración de hemoglobina como único test para detectar la anemia ferropénica en zonas subdesarrolladas donde con frecuencia, la anemia se debe a deficiencia de hierro y no están disponibles los test diagnósticos que confirmen la ferropenia. Sin embargo, otros autores han cuestionado que esta estrategia de diagnóstico de anemia ferropénica sea válida en áreas industrializadas (Linpisarn et al., 1996).

El hematócrito es la relación del volumen de eritrocitos con el de la sangre total. Acostumbra a expresarse como un porcentaje. En la interpretación de esta magnitud, al igual que sucede con la concentración de hemoglobina y con el número de hematíes, hay que tener en cuenta la edad y el sexo. Un valor por debajo de lo normal indica anemia.

Los *índices eritrocitarios secundarios* se obtienen relacionando el hematócrito con los llamados índices eritrocitarios primarios, en concreto con, el número de hematíes y la concentración de hemoglobina. El **VCM** informa sobre el valor medio del volumen de cada hematíe. Es un parámetro muy utilizado sobre el que se basa la moderna clasificación morfológica de las anemias. Permite clasificar las anemias en tres grandes grupos: macrocíticas (VCM > 98 fL), microcíticas (VCM < 70 fL) y normocíticas (VCM entre 70 y 98 fL). El **CCMH** informa sobre el contenido medio de hemoglobina en cada eritrocito. Su valor normal se sitúa entre 28 y 32 pico gramos. Disminuye en las anemias microcíticas, como la ferropénica. Por el contrario, aumenta en las anemias macrocíticas. Por último, el **CHCM** informa sobre el contenido medio de hemoglobina por ml de eritrocitos, relacionando así el VCM con la HCM. Sus valores normales se encuentran entre 32 y 36% (Janus & Moerschel, 2010).

Dentro de las magnitudes bioquímicas utilizadas con mayor frecuencia, en el estudio de la deficiencia de hierro se encuentran: el hierro, la transferrina y la ferritina (Vreugdenhil et al., 1992). Recientemente se ha incorporado la determinación del receptor soluble de transferrina en suero (Archer & Brugnara, 2015).

La concentración de **hierro** en suero, concretamente del ión férrico, refleja principalmente la cantidad de hierro unido a la transferrina. En la práctica su determinación de forma aislada es poco fiable y puede conducir fácilmente a conclusiones erróneas debido a que representa tan sólo el 0,1% del contenido en el organismo. Asimismo, está sujeto a una gran variabilidad biológica debido al sexo, al ritmo circadiano y otros ritmos cíclicos (Madanat, El-Khateeb, Tarawaneh, & Hijazi, 1984), (Ahluwalia et al., 1995). Respecto al sexo, la concentración sérica de hierro es mayor en el hombre que en la mujer. La diferencia entre ambos sexos depende de la edad y no se manifiesta en la infancia (Zilva & Patston, 1966), (I. Kim, Yetley, & Calvo, 1993).

La **transferrina**, es una macromolécula encargada de transportar el hierro desde los lugares donde se libera hasta los lugares en que se necesita. La unión no específica del hierro a otras proteínas, como la albúmina, sólo se produce en cantidad significativa en situaciones de sobrecarga de hierro con valores elevados de saturación de la transferrina. Estructuralmente es una glucoproteína formada por una sola cadena poli peptídica que contiene 687 aminoácidos y un 6% de carbohidratos (Mbugi et al., 2010), (MacGillivray et al., 1982). En su secuencia de aminoácidos se observa la existencia de dos dominios homólogos y cada uno de ellos tiene un centro para la fijación del hierro, especialmente el ión férrico (Fe^{3+}). Por lo tanto, cada molécula de transferrina puede fijar dos átomos de Fe^{3+} . Normalmente la transferrina suele encontrarse saturada en un 33% de su capacidad, mientras que los dos tercios restantes representan su capacidad latente para unirse al hierro.

Así, la molécula de transferrina puede circular de tres formas:

1. Diférrica: 100% de saturación. Con dos átomos de Fe^{3+} .
2. Monoférrica: 50% de saturación. Con un átomo de Fe^{3+} .
3. Apotransferrina: 0% de saturación. Ningún átomo de Fe^{3+} .

La síntesis de transferrina se realiza mayoritariamente en el hígado, aunque una pequeña proporción se sintetiza en las células del SRE y en glándulas endocrinas como los testículos y los ovarios. Su vida media es de 8 a 12 días. La regulación de los niveles séricos depende de la biodisponibilidad del hierro. De forma que su síntesis puede verse incrementada en la deficiencia de hierro, para volver a normalizarse tras el tratamiento con hierro (Zawadzki & Edwards, 1970), (Ong, Han, Wong, & Lee, 2014).

La concentración de transferrina informa de la cantidad máxima de hierro que puede ser transportada. Su determinación, en suero o plasma, es de utilidad principalmente para el diagnóstico diferencial del tipo de anemia y para la monitorización de su tratamiento (Gambino, 1996).

Tanto la deficiencia de hierro como la anemia que produce se asocian a un aumento de la transferrina. Por otra parte, la transferrina se comporta como un reactante de fase aguda negativo y disminuye en suero en los procesos inflamatorios o malignos. Otras patologías, que cursan con niveles disminuidos de transferrina son, además de la anemia de los trastornos crónicos, los estados en los que se produce una sobrecarga de hierro, las talasemias y anemias sideroblásticas (Gambino, 1996).

La **ferritina** es una macromolécula que tiene una cubierta proteica, la apoferritina, formada por 24 subunidades poli peptídicas que rodean un núcleo central de hierro. Con una capacidad máxima para 4.500 átomos de hierro, la molécula suele contener un promedio de aproximadamente 2.500 en estado de ión férrico. La apoproteína tiene un peso molecular de 440.000 daltons. La proporción entre hierro y polipéptido no es constante puesto que la proteína tiene la capacidad de incorporar y eliminar hierro, según las necesidades fisiológicas. Cuando el hierro se encuentra en exceso, la capacidad de almacenamiento de la apoferritina recién sintetizada puede quedar superada y lleva a la deposición de hierro al lado de las esferas de ferritina, en forma de hierro amorfo que se denomina, histológicamente, hemosiderina. (Lorcerie et al., 2015).

La síntesis de ferritina está inducida por el hierro que llega a las células unido a la transferrina, o en el interior del grupo hemo de la hemoglobina en caso de hemólisis. Si bien todas las células del organismo son capaces de sintetizar esta proteína para poder almacenar el hierro, en la práctica son las células del parénquima hepático y las células retículo-endoteliales de la médula ósea, el hígado y el bazo, los puntos principales de almacenamiento, acaparando más del 90% del depósito de hierro del organismo. Una fracción representativa de la ferritina sintetizada es glicosilada y liberada al torrente circulatorio, por lo que la ferritina contenida en las células suele estar en equilibrio con la ferritina sérica. Por ello, en sujetos sanos, la concentración sérica de ferritina es proporcional a la cantidad de hierro depositado. Debido a ello, su principal aplicación clínica reside en su capacidad para evaluar los depósitos férricos. (Leggett et al., 1990).

La concentración de ferritina sérica refleja de forma muy exacta los depósitos tisulares de hierro. Sin embargo, la determinación de esta magnitud también tiene sus limitaciones (Cavill, 1999). Entre ellas destaca que la ferritina es un reactante de fase aguda positivo, es decir, su concentración sérica aumenta en presencia de un proceso infeccioso y/o inflamatorio (Lorcerie et al., 2015), (VanWagner & Green, 2014). Otras enfermedades en las que la concentración de ferritina puede aumentar son la hemocromatosis, las hepatopatías las enfermedades crónicas (como la enfermedad de Still o el hipertiroidismo), los procesos hematológicos malignos o las politransfusiones. (Pintar, Skikne, & Cook, 1982).

El receptor de transferrina humano, es una glicoproteína transmembrana compuesta por dos subunidades idénticas, de 95.000 daltons, que están unidas por puentes disulfuro. Se cree que cada subunidad se combina con una molécula de transferrina teniendo el complejo transferrina-receptor de transferrina un peso molecular aproximado de 350.000 daltons (Verhoef et al., 2001). Un pequeño número de estos receptores celulares de transferrina se escinden y circulan en forma libre en el plasma denominándose, cada uno de ellos, receptor soluble de transferrina (sRTf) (Verhoef et al., 2001). Se trata de un monómero truncado de 74 kDa, que circula unido a la transferrina (Angeles Vázquez López et al., 2006).

El receptor de transferrina está presente en todos los tejidos, aunque en distintas cantidades. La cantidad de receptores presentes en las células es un reflejo directo de la necesidad de hierro de esas células y constituye el determinante principal del aporte de hierro (Bothwell, Baynes, MacFarlane, & MacPhail, 1989), (Feelders, Vreugdenhil, van Dijk, Swaak, & van Eijk, 1993), (Weiler, Jean-Philippe, Cohen, Vanstone, & Agellon, 2015). Su expresión es especialmente elevada en las células de los órganos que captan grandes cantidades de hierro, como el hígado y la placenta, siendo máxima en las células con capacidad de sintetizar hemoglobina: los precursores eritroides y eritrocitos. Se ha calculado que dos tercios del receptor sérico de transferrina proceden del tejido eritropoyético (Vázquez López et al., 2001). Además, el número de receptores de transferrina presentes en la membrana celular depende también, de la fase del ciclo celular, de forma que las células en reposo mitótico tienen muy pocos receptores mientras que las células que tienen una elevada capacidad de división contienen concentraciones elevadas (Kühn, 2015). La concentración de receptor soluble de transferrina también depende de la actividad eritroide (Feelders et al., 1993). Se encuentra aumentado en la anemia ferropénica, la anemia megaloblástica, anemia hemolítica y en determinadas enfermedades con aumento de proliferaciones celulares tipo leucemia linfática crónica y las talasemias (Eisenstein & Blemings, 1998), (Angeles Vázquez López et al., 2006).

En la actualidad, el diagnóstico de anemia en lactantes se establece teniendo en cuenta la disminución en la concentración de hemoglobina, en lactantes el límite inferior de la hemoglobina es de 11,0 g/dL (“Conclusions and recommendations of the WHO Consultation on prevention and control of iron deficiency in infants and young children in malaria-endemic areas,” 2007). La Hb es la prueba de elección para el cribado de anemia.

Si la anemia es micro o normocítica, el segundo paso será descartar la deficiencia de hierro. En la anemia ferropénica, la concentración de hierro sérico está disminuida, la capacidad de la transferrina para unirse al hierro aumentada, y el contenido sérico de ferritina disminuido.

La ferropenia, en ausencia de anemia, puede pasar desapercibida (Bellamy & Gedney, 1998). Los niveles de ferritina en suero suelen reducirse rápidamente en la ferropenia, incluso antes de que aparezcan los primeros síntomas de anemia ferropénica o de que se altere la concentración de hemoglobina, la morfología de los eritrocitos o el volumen corpuscular medio. Para demostrar el déficit de hierro es necesario determinar la ferritina sérica. La saturación de transferrina y el receptor de transferrina, son también buenos marcadores de ferropenia, pero quedarían en un segundo plano por motivos de coste-beneficio y aplicabilidad. Por tanto, la determinación de ferritina sérica es el parámetro aceptado universalmente para valorar las reservas de hierro. Como señalamos anteriormente, es una limitación para su interpretación como marcador de las reservas de hierro que, al tratarse de un reactante de fase aguda, se eleva en procesos inflamatorios e infecciosos. Sin embargo, la determinación conjunta de la PCR, cuya elevación indica la existencia de un proceso infeccioso o inflamatorio, permite descartar tales procesos y dar validez al valor de ferritina sérica. Una cifra de ferritina menor de 12ug/l en población infantil es diagnóstico de ferropenia (Madanat et al., 1984). El diagnóstico de anemia ferropénica implica la asociación de ferropenia y anemia (Derovs et al., 2014).

1.6. Repercusiones clínicas de los estados carenciales de hierro en el lactante.

La ferropenia es un proceso sistémico, con frecuencia asintomático, que se asocia a multitud de efectos que incrementan tanto la morbilidad y mortalidad (P. Dallman, 1993), (Prentice, 2008). La clínica depende del grado de deficiencia y de la rapidez con la que se instaura (Cook, 1982), (Ahluwalia et al., 1995).

Pueden existir signos, síntomas y efectos adversos derivados de la carencia del micronutriente y síntomas relacionados con la anemia (Tabla 8).

Las situaciones de carencia de hierro y de anemia leve o moderada, pueden cursar con sintomatología escasa o incluso de forma asintomática.

- Cuando coexisten ferropenia y anemia, se observan los síntomas clásicos de cualquier tipo de anemia como: palidez de piel y mucosas, apatía, astenia, anorexia, palpitations y disnea (Walter et al., 1993).

•En los casos de anemia ferropénica grave, es posible objetivar sintomatología compatible con otras patologías como la enfermedad cardíaca cianótica (Olcay et al.) y dificultad respiratoria (Hetzl & Losek, 1998).

En ocasiones, en niños pueden encontrarse manifestaciones características como la pica, trastorno de la conducta alimentaria con tendencia a comer ciertas sustancias como tierra; y excepcionalmente se ha asociado también a papiledema, y pseudotumor cerebral (Hartfield, Lowry, Keene, & Yager, 1997).

Además de la sintomatología clásicamente relacionada con la anemia ferropénica (AF), en la literatura científica existen datos contradictorios sobre la relación de la ferropenia y AF con efectos adversos sobre la respuesta inmunitaria, el desarrollo cognitivo y motor y el desarrollo físico. Las manifestaciones clínicas de la deficiencia de hierro quedan registradas en la Tabla 7.

Clínica de anemia ferropénica	
Síntomas generales	Astenia, anorexia, cefalea.
Alteraciones digestivas	Queilitis angular, glositis, atrofia vellositaria,
Alteraciones piel	Palidez, pelo ralo.
Pica	Trastorno de la conducta alimentaria, Tendencia a comer ciertas sustancias como, tierra (geofagia) o hielo (pagofagia).
Síntomas cardiopulmonares	Taquicardia, palidez, soplo, disnea de esfuerzo.
Alteraciones inmunológicas	Alteración en la inmunidad celular y capacidad bactericida de los neutrófilos.
Alteraciones cognitivas	Alteración del sueño, y del rendimiento escolar.

Tabla. 7. Manifestaciones clínicas de la anemia ferropénica

Son escasos los estudios que demuestran variaciones en el desarrollo pondoestatural tras el tratamiento con hierro en niños (Aukett, Parks, Scott, & Wharton, 1986), (Angeles, Schultink, Matulesi, Gross, & Sastroamidjojo, 1993). La mayoría de estudios no encuentran un efecto positivo sobre el crecimiento, como demuestra el meta-análisis de Ramakrishanan (Ronsmans, Fisher, Osmond, Margetts, & Fall, 2009).

1.6.1. Alteraciones neuro-conductuales.

Existen controversia sobre si la AF tiene un efecto negativo sobre el desarrollo (B Lozoff et al., 1987), (Hernell & Lönnerdal, 2011), (Betsy Lozoff et al., 2013). La implicación en el desarrollo psicomotor es controvertida. El hierro está implicado en múltiples procesos del sistema nervioso: síntesis de adenosin trifosfato (ATP), neurotransmisores y formación de mielina, considerándose esencial para la adecuada neurogénesis y la diferenciación de celular. La ferropenia también puede alterar la síntesis y el catabolismo de las monoaminas, dopamina y noradrenalina, implicadas en los ciclos de sueño y las funciones de memoria y aprendizaje (Dobbing & Sands, 1979), (J. Beard, 1995). El contenido de hierro cerebral va aumentando a lo largo de la infancia hasta alcanzar los niveles del adulto tras la pubertad. Hay estudios que sustentan la hipótesis de que la AF, e incluso el déficit de hierro, puede causar alteraciones en el desarrollo cognitivo y motor, habiéndose asociado a alteraciones de la capacidad de atención, disminución del rendimiento intelectual, fracaso escolar y anormalidades de la conducta en niños, así como al trastorno por déficit de atención con hiperactividad, el síndrome de las piernas inquietas, espasmos del sollozo y alteraciones en el patrón del sueño (B Lozoff et al., 1987), (Walter, 1994), (Chang et al., 2011). Son varios los estudios que han relacionado la AF en el lactante con alteraciones en el desarrollo madurativo con peores puntuaciones en los test de función cognitiva, y con afectación de la capacidad de aprendizaje (Chang et al., 2011), (Betsy Lozoff, Castillo, Clark, Smith, & Sturza, 2014), (H. Sachdev, Gera, & Nestel, 2005), (McCann & Ames, 2007), (J. L. Beard, 2008), (Moráis López & Dalmau Serra, 2011), (Chang et al., 2011), (H. Sachdev et al., 2005).

Estos resultados son motivo de controversia, el principal problema de estos estudios, es que están sujetos a sesgos de difícil control relacionados con factores de tipo socio-económico y cultural. Tampoco está claro el mecanismo fisiopatológico, ni si estas alteraciones serian reversibles con la corrección de la anemia para así poder fundamentar la relación causal (Desforges & Oski, 1993), (Soewondo, Husaini, & Pollitt, 1989), (Walter, 1994). El U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF), en su revisión de 2006, concluía que había escasa evidencia (estudios contradictorios) de que el tratamiento de la AF mejore la función cognitiva (Siu, 2015). Tampoco se ha encontrado evidencia suficiente sobre la mejoría del desarrollo motor. Así, en una revisión Cochrane sobre el efecto del tratamiento de la AF sobre el desarrollo psicomotor, se concluyó que no había suficiente evidencia para confirmar la hipótesis de mejoría en el desarrollo tras el tratamiento con hierro, y que la relación causa efecto no podía ser demostrada (Wang, Zhan, Gong, & Lee, 2013). Sin embargo, estudios recientes orientan a que pueda existir un beneficio clínico relevante, fundamentalmente en pacientes con AF (H. P. S. Sachdev & Gera, 2013). En conclusión, la suplementación con hierro en niños con ferropenia no ha podido demostrar un efecto definitivo sobre el desarrollo psicomotor y otros síntomas neurológicos.

1.6.2. Relación Hierro-Inmunidad-Infecciones

En la literatura científica existe controversia sobre si el déficit de hierro promueve o protege frente a las infecciones (Stockman, 1981), (Walter, Olivares, Pizarro, & Muñoz, 1997), (Fishbane, 1999), (Oppenheimer, 2001), (Nairz, Haschka, Demetz, & Weiss, 2014). Por un lado, tanto la ferropenia como la AF se han asociado a alteraciones en la respuesta inmunitaria y a aumento de procesos infecciosos. La disfunción del sistema inmune secundaria a malnutrición se conoce desde hace décadas (Desforges & Oski, 1993), (Cunningham-Rundles et al., 2009), siendo ésta la causa más frecuente de inmunodeficiencia.

Diferentes estudios demuestran una asociación significativa con alteraciones inmunológicas tales como deterioro de la respuesta inmunitaria celular, disminución de la respuesta de hipersensibilidad retardada cutánea, disminución de las subpoblaciones linfoides T, alteración del cociente CD4/CD8 (J. L. Beard, 2008), disminución de las células NK, de la función fagocítica, del sistema de complemento, de la concentración de inmunoglobulina sIgA y de la producción de citocinas (Desforgues & Oski, 1993),(Scott, Chen-Edinboro, Caulfield, & Murray-Kolb, 2014), (Thibault et al., 1993), (Walter et al., 1997).(Collins, Franck, Kowdley, & Ghishan, 2005),(Ekiz, Agaoglu, Karakas, Gurel, & Yalcin, 2005). Gran parte de la morbilidad y mortalidad de sujetos con malnutrición se debe a infecciones. Tanto la disminución de proteínas y de aminoácidos como de micronutrientes como el hierro se han asociado a alteraciones en la respuesta inmunitaria (Finocchi et al., 2002). Así, el déficit de hierro se ha relacionado con disfunción tanto en la respuesta inmunitaria innata (alteración de actividad fagocítica y bactericida de neutrófilos), como de la respuesta adaptativa (respuesta humoral y celular), (Peto & Hershko, 1989), (Cunningham-Rundles et al., 2009). Entre los hallazgos encontrados destaca la reducción del número de linfocitos y la disfunción de células T, con alteración en las pruebas de hipersensibilidad retardada a antígenos, disminución de la capacidad linfoproliferativa y disminución de la producción de IL-2 (Galan, Thibault, Preziosi, & Hercberg), (Oppenheimer, 2001), (Ekiz et al., 2005). Por tanto, hay autores que señalan que el déficit de hierro facilitaría el desarrollo de infecciones (Oski & Honig, 1978), (Thibault et al., 1993), (Oppenheimer, 2001) mientras que otros autores hipotetizan que el déficit de hierro tendría un papel protector frente al desarrollo de procesos infecciosos (Parrow, Fleming, & Minnick, 2013), (Rodríguez et al., 2014), (Tomas Ganz, 2012).Para diversos microorganismos patógenos el hierro es esencial para sobrevivir, crecer y sintetizar factores de virulencia. En el organismo el contenido de hierro libre es muy bajo, puesto que la mayor parte se encuentra unida a proteínas. Por ello, algunas bacterias expresan receptores de membrana, sideroforos o hemoforos, que fijan hierro libre o hemoproteínas.

Se postula que el organismo, al disminuir la cantidad de hierro disponible por el microorganismo, inhibiría la infección (Günter Weiss, 2009), (T Ganz, 2006), (Reeves, Yip, Kiley, & Dallman, 1984). Por otro lado, al limitar el hierro disponible, la eritropoyesis estaría limitada dando lugar a la anemia inflamatoria (Tomas Ganz & Nemeth, 2009), (A. Kim & Nemeth, 2015). El organismo utiliza el secuestro de hierro como mecanismo de control de la infección y proliferación de microorganismos. Se ha señalado inclusive que los suplementos con hierro podrían incrementar la morbilidad en pacientes con enfermedades infecciosas, en particular con malaria o alteraciones genéticas como la hemocromatosis, puesto que el incremento de la disponibilidad de hierro favorecería el desarrollo de los microorganismos patógenos al tratarse de un nutriente esencial para su crecimiento (Zlotkin et al., 2013), (Vento, Cainelli, & Cesario, 2006). Por tanto, los resultados publicados respecto a la deficiencia de hierro en la respuesta inmunitaria son contradictorios.

1.7. Pautas de actuación ante el déficit de hierro.

1.7.1. Identificación factores de riesgo.

En la actualidad la ferropenia y AF siguen constituyendo una de las principales deficiencias nutricionales incluso en los países industrializados (Hercberg, Preziosi, & Galan, 2001). Por ello, el control de la deficiencia de hierro es una prioridad de salud pública en todo el mundo, fundamentalmente en población infantil (Scrimshaw, 1991), (Scrimshaw, 2000), (Freire, 1997), (Uijterschout et al., 2015). Los lactantes son uno de los principales grupo de riesgo para el desarrollo de ferropenia y anemia (Domellöf et al., 2014). Por ello, la búsqueda de la alimentación óptima del lactante constituye un reto para la investigación (Desforges & Oski, 1993), (Leung & Chan, 2001). El hierro en la infancia depende en gran parte de cuatro factores, (Lash & Saleem): el hierro al nacimiento que se relaciona con el estado de hierro materno, las necesidades postnatales de hierro, los aportes externos de hierro y las pérdidas de hierro.

En los primeros seis meses de vida, la fuente principal de hierro es el hierro de origen fetal, que es almacenado en las últimas semanas de gestación y liberado por la Hb durante las dos primeras semanas de vida. El peso al nacer, la edad gestacional, y el tiempo que se tarda en pinzar el cordón umbilical influyen en el hierro total al nacer.

En la etapa perinatal los principales factores de riesgo para desarrollar ferropenia son: la prematuridad, el bajo peso en el nacimiento y la patología materna (anemia, hipertensión o diabetes). Respecto a la prematuridad, son varias las circunstancias que favorecen el desarrollo de ferropenia: menores depósitos de hierro por el marcado suministro de hierro al feto durante el último trimestre del embarazo; una menor supervivencia de los hematíes (40-60 días), mayor velocidad de crecimiento (con el consiguiente aumento de la masa eritrocitaria), escasa respuesta eritropoyética a la anemia y las frecuentes extracciones practicadas durante su hospitalización (FAO/WHO, 1988/revisión 2004). En cuanto a los factores de riesgo postnatales, un índice de crecimiento rápido, una dieta baja en hierro y el consumo precoz de leche de vaca (baja biodisponibilidad del hierro) son los principales factores de riesgo para el desarrollo de ferropenia (Fomon, Nelson, Serfass, & Ziegler, 2005). En la tabla 8 se exponen los factores de riesgo de ferropenia en el lactante.

Factores de riesgo de ferropenia	
Factores Perinatales	Factores del lactante
Recién nacido de bajo peso	LM exclusiva por más allá de 6 meses.
Gestación múltiple Extracciones múltiples sangre	Alimentación con LA no suplementada Ingesta de leche de vaca antes de 12 meses
Hemorragia uteroplacentaria. Anemia, HTA, diabetes, en la madre Prematuridad	Dietas vegetarianas

Tabla.8. Factores de riesgo de ferropenia. Adaptado de PrevInfad. Junio 2011.

Existe controversia respecto a la necesidad de cribado de ferropenia durante la lactancia. En general, no se recomienda cribado en niños sin factores de riesgo y sí se recomienda el cribado de anemia ferropénica en todos los prematuros de menos de 1.500 g. (Siu, 2015), (Bogen, Duggan, Dover, & Wilson, 2000). El valor predictivo positivo (VPP) del cribado se incrementa en zonas de prevalencia de anemia superiores al 10%. Así, si la prevalencia es menor del 10%, el VPP es bajo (Bogen et al., 2000).

1.7.2. Medidas Preventivas. Recomendaciones Sociedades Científicas.

Referente a las medidas preventivas, en cuanto a los factores prenatales, es fundamental asegurar una buena nutrición materna y un buen control de la gestación con cribaje de ferropenia y de anemia ferropénica en la gestante. Respecto a los factores perinatales, en los últimos años han aparecido numerosos estudios que muestran los beneficios y los riesgos de retrasar el pinzamiento del cordón umbilical. En un cuidadoso metanálisis publicado en 2007, que incluía 15 ensayos clínicos y un total de 1912 recién nacidos a término, los autores concluyeron que se dispone de adecuada evidencia para aconsejar el retraso de, al menos, dos minutos en el pinzamiento del cordón umbilical. Este retraso conlleva beneficios significativos para el niño, que van más allá del periodo neonatal, ya que se muestra una diferencia significativa en la frecuencia de anemia de los dos a los tres meses de edad y a los seis meses de edad. Esto tiene especial valor en los países en los que el acceso a una buena nutrición es difícil (Chaparro, 2008).

En los lactantes existe controversia sobre las medidas preventivas a adoptar frente a la deficiencia de hierro (Ziegler & Fomon, 1996), (Bogen et al., 2000) (Kazal, 2002) (Kramer & Kakuma, 2012). Muchos estudios muestran que el tratamiento con hierro mejora el desarrollo psicomotor (Betsy Lozoff et al., 2014), (Long et al., 2012), (Beltrán-Navarro, Matute, Vásquez-Garibay, & Zarabozo, 2012), (Jin, Wang, Chen, Wang, & Liu, 2015), aunque no son unánimes, (McDonagh, Blazina, Dana, Cantor, & Bougatsos, 2015). Además, se ha relacionado la AF e incluso la carencia de hierro a disfunción del sistema inmune (Thibault et al., 1993), (Oppenheimer, 2001).

Sin embargo, otros estudios le dan un papel protector frente a la infección (Stockman, 1981). Una de las ventajas de las intervenciones en la lucha contra la ferropenia es que es uno de los problemas más tratables debido a la posibilidad de intervenir con un coste relativamente bajo, ya que la prevención de ferropenia en lactantes se basa fundamentalmente en unas pautas de alimentación correctas.

La OMS recomienda la LM exclusiva durante los primeros seis meses de vida y la Academia Americana de Pediatría (AAP) la recomienda durante un mínimo de cuatro meses y preferentemente durante seis. (Baker & Greer, 2010). Posteriormente se aconseja el inicio de la alimentación complementaria diversificada. La alimentación complementaria puede aportar una ingesta suficiente de hierro a través de alimentos ricos en hierro *hem* (carnes, aves de corral, pescado) y no *hem* (legumbres). Es importante retrasar la introducción de leche de vaca para después del primer año de vida porque, aunque contiene algo más de hierro que la leche materna, su disponibilidad es muy baja y además interfiere con la absorción del hierro de otros alimentos (Hurrell, Lynch, Trinidad, Dassenko, & Cook, 1989).

En casos de niños que continúen con LM exclusiva más allá de los seis meses, la AAP por medio de su Comité de Nutrición ESPGAN, recomiendan suplementación con hierro a dosis de 1 mg / Kg/ día con sulfato ferroso vía oral y, si reciben LA, se recomienda la ingesta de fórmula enriquecidas, y cereales enriquecidos con hierro (AAP, 1999; ESPGHAN, 2014). En los entornos donde la **prevalencia de anemia** en niños es aproximadamente superior al 40% o la dieta no incluye alimentos enriquecidos con hierro, la OMS recomienda administrar suplementos de hierro en dosis de 2 mg/kg/día a todos los niños de 6 y 23 meses de edad. Los recién nacidos con **bajo peso** al nacer (2000-2500g) deben recibir suplementos de hierro de 1 a 2 mg/kg/d. En cuanto a los **recién nacidos prematuros**, se estima que el 14% desarrollarán ferropenia entre los cuatro y los ocho meses de edad. (Mills & Davies, 2012). Por ello Previnfad, la AAP y la ESPGHAN, recomiendan una ingesta mínima de hierro de 2 mg/kg/día, que se consigue con las fórmulas artificiales que tengan un contenido de hierro igual o superior a 12 mg/l.

Si recibe LM deben recibir aportes de hierro desde el primer mes de vida hasta que tomen alimentación complementaria rica en hierro, a una dosis de 4 mg/kg/día si el peso al nacimiento fue inferior a 1500 g. y de 2-4 mg/kg/día si el peso fue mayor de 1500 g. Los alimentados con LA, con fórmula estándar para prematuros (14,6 mg/l de hierro) o una normal (8-13 mg/l) reciben aproximadamente 1,5 a 2,2 mg/kg/día de hierro (Berglund & Domellöf, 2014). En líneas generales, no se recomienda la suplementación universal con hierro. No obstante, tampoco existe evidencia suficiente para contraindicar la administración de suplementos en lactantes sanos en países desarrollados. En la actualidad, se recomienda el tratamiento de la anemia ferropénica por las posibles implicaciones en el desarrollo neuroconductual y posible aumento de la morbilidad infecciosa.

Recomendaciones generales Sociedades Científica.

Sociedad	RN a Término		RN Pre- término	
	LA	LM	LA	LM
Previnfad	<p>-A partir del sexto mes: 1mg/kg día de hierro</p> <p>-Si factores de riesgo : 2-4mg/ Kg/ día de hierro</p>	<p>-Si formula fortificada, no suplementos</p> <p>-Si factores de riesgo prenatal o perinatal 2-4mg/ Kg/ día de hierro, a partir del 4-6 mes de vida, mínimo durante 3 meses.</p>	<p><1500g. 4mg/ kg/ día de hierro, desde el primer mes hasta introducción de la alimentación complementaria</p> <p>>1500g. Hemorragia perinatal o gran número de extracciones 2-4/ mg/ Kg/día de hierro desde el primer mes hasta introducción de la alimentación complementaria.</p>	<p>-No suplementación, si formula reforzada con > 12mg/l de hierro .</p> <p>-Salvo en prematuros de <1500g. que recibirán aportes totales.</p>
AAP	<p>Lactancia materna o mixta hasta la introducción de alimentación complementaria</p> <p>1mg/ Kg/ día Fe</p>	<p>Uso de fórmulas suplementadas con 6,7 mg/ L Fe</p>	<p>Suplemento de hierro de 2mg/ Kg/ día Fe, desde el primer mes, hasta la administración de una fórmula suplementada con hierro o hasta introducción de la alimentación complementaria</p>	<p>Uso de fórmulas suplementadas >12mg/ L Fe</p>
UPSTF	<p>-Recomienda si factores de riesgo. Si evidencia para suplementar con hierro a lactantes con factores de riesgo. -No encuentra evidencia para suplementar a lactantes asintomáticos.</p>			

Tabla.9. Recomendaciones para la prevención de ferropenia en lactantes.
 Adaptada de PrevInfad Junio.2011. PrevInfad: grupo de trabajo de la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria y del programa de actividades preventivas y de Promoción e la salud. AAP: asociación americana de Pediatría. UPSTF: U.S. Preventive Services Task Force

2. CAPÍTULO.

**Justificación
Hipótesis
Objetivos del trabajo.**

2.1. Justificación.

La ferropenia y la anemia son consideradas un problema de salud pública. (Berglund & Domellöf, 2014). Los lactantes son una población de riesgo para el desarrollo de ferropenia debido a los altos requerimientos de hierro que, en muchas ocasiones no son cubiertos por la alimentación fundamentalmente láctea que reciben durante esta etapa (Scrimshaw, 1991), (Cook, 1995), (Desforges & Oski, 1993).

Mientras que en los países subdesarrollados la anemia ferropénica y la ferropenia tienen una elevada prevalencia y son causa de gran morbilidad y mortalidad (Scott et al., 2014); en los países industrializados las intervenciones de suplementación de alimentos, en fórmula adaptadas y cereales desde las décadas de los 80 y 90, han contribuido a una disminución importante de la prevalencia. (Kassebaum et al., 2013). Sin embargo, a pesar de estas medidas que aseguran un correcto aporte de hierro el déficit de hierro sigue siendo un problema de salud, con una prevalencia estable en las últimas décadas (Eden & Mir, 1997), (Kassebaum et al., 2013), (WHO, 2007). Así mismo, diversos estudios realizados en lactantes muestran un fracaso en el tratamiento de la ferropenia durante la lactancia; siendo la edad un factor relevante para la prevalencia de ferropenia y anemia ferropénica. Así, se observa una mayor prevalencia de anemia en niños con edades entre 12-24 meses, disminuyendo significativamente a la edad de 3 y 4 años (Pasricha, Drakesmith, Black, Hipgrave, & Biggs, 2013).

Recientemente se ha demostrado una marcada influencia del sistema inmunitario en el metabolismo del hierro en población adulta. (Nemeth et al., 2004), (Guenter Weiss & Goodnough, 2005), (Günter Weiss, 2009), (Weiss G, 2005, Nemeth 2004.) Por lo que, es posible que la anemia en la lactancia no sea exclusivamente un problema nutricional, sino que sea la respuesta de un sistema inmune en desarrollo a procesos inflamatorios frecuentes en esta etapa.

Así, la anemia de carácter leve, observada en la lactancia y buscada sistemáticamente por los pediatras es posible que sea resultado de un estado inflamatorio secundario a infecciones recurrentes y características de esta etapa.

Por otro lado, la suplementación de hierro en determinados momentos críticos de la vida puede tener consecuencias en la salud. En la literatura encontramos datos contradictorios a la suplementación con hierro (Cook, 1995), (Long et al., 2012), (Zlotkin et al., 2013). Algunos autores que encuentran un aumento de procesos infecciosos (Peto & Hershko, 1989), (Oppenheimer, 2001), y otros una disminución (Walter et al., 1997), (Domellöf, 2007), (Okebe, Yahav, Shbita, & Paul, 2011). Estas discrepancias constatan que el papel del hierro en la función inmunitaria de los lactantes no ha sido caracterizado con precisión.

Los estudios realizados sobre el tema son en su mayoría de carácter transversal, por lo que no permiten valorar la relevancia clínica de las alteraciones inmunitarias encontradas. Tampoco se ha definido el papel de las citocinas y de la hepcidina en el metabolismo del hierro en lactantes sanos (Jansson, Kling, & Dallman), (Michels, Nemeth, Ganz, & Mehrad, 2015).

Existen por tanto, importantes lagunas en el conocimiento de la hepcidina y de las citocinas inflamatorias en el metabolismo del hierro del lactante, así como, de su relevancia clínica, por lo que se considera necesario la proyección de estudios para valorar estos aspectos (Michels et al., 2015).

El presente proyecto de investigación se plantea como un estudio para valorar la influencia de las citocinas inflamatorias en el metabolismo del hierro, especialmente sobre la hepcidina, la ferritina, y de su relación con el desarrollo de anemia en el lactante.

2.2. Hipótesis.

“La existencia de una respuesta inmunitaria inmadura en los lactantes sanos, conllevaría a un estado inflamatorio, en respuesta de la exposición del niño a estímulos habituales de esta edad, como infecciones”.

Mediante el estímulo inflamatorio, se produciría un cambio de respuesta inmunitaria de Th2 característica al nacimiento, hacia una respuesta inmunitaria Th1, hacia los 6-12 meses de vida. Este estado inflamatorio presente durante la lactancia podría dar lugar a la expresión de un perfil característico de citocinas pro-inflamatorias en el lactante, que podría relacionarse con los niveles de hepcidina, ferritina y o hemoglobina”.
Figura.13. De tal manera, que la expresión de un perfil de citocinas Th1 en el lactante, con liberación de citocinas pro-inflamatorias, produciría un aumento de los niveles de hepcidina sérica, que inducirían una disminución del hierro sérico, y que podría dar lugar a anemia en el lactante.

La disminución del hierro sérico a favor de un aumento de los depósitos, sería un mecanismo fisiológico de respuesta del sistema inmunitario inespecífico, que tendría como finalidad, evitar la proliferación del patógeno durante el proceso infeccioso.

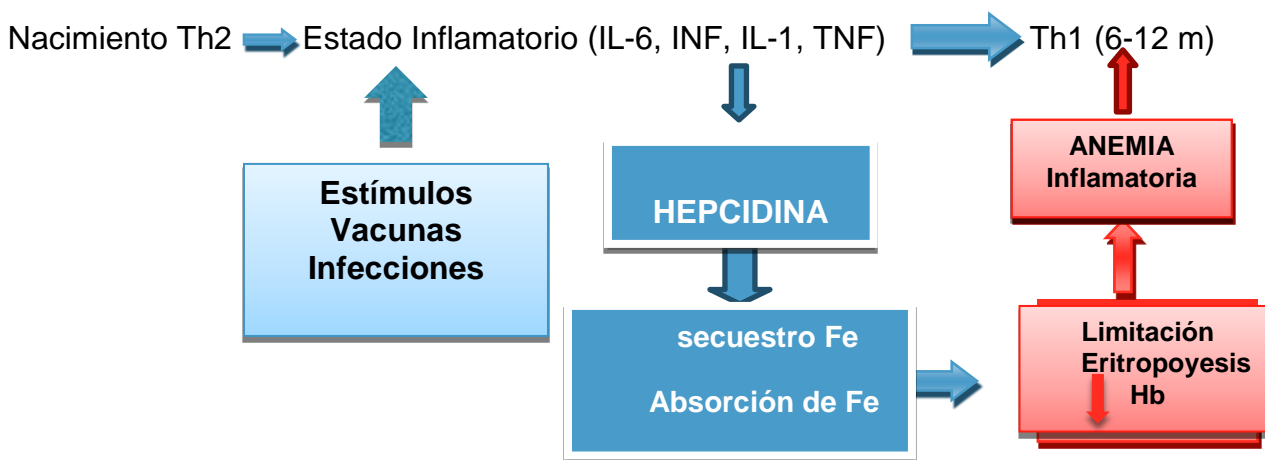


Figura. 13. Algoritmo de la Hipótesis de trabajo

2.3. Objetivos.

Objetivos Principales:

1. Estudiar la influencia de los procesos infecciosos en la expresión de citocinas inflamatorias, el metabolismo del hierro (ferritina, hierro, hepcidina) y la presencia de anemia en una población de lactantes sanos en Reus (Tarragona).
2. Analizar la relación entre la expresión de citocinas -inflamatorias (IL-1, IL-2, TNF- α , TNF- β , IL-6, IL-8, IL-10 e INF- γ), en el metabolismo del hierro, (ferritina, hierro, hepcidina), y la presencia de anemia a los 6 y 12 meses de vida en lactantes en nuestra área.

Objetivos secundarios:

1. Determinar la prevalencia de ferropenia y anemia en lactantes sanos en nuestra área de estudio.
2. Determinar los niveles de hepcidina en el lactante sano en nuestra población.
3. Analizar el efecto de la alimentación, en el desarrollo y en el metabolismo del hierro de los lactantes.
4. Evaluar el efecto de la suplementación dietética en lactantes, con diferentes dosis de hierro en la fórmula adaptada, sobre el metabolismo del hierro, el desarrollo físico y la morbilidad (enfermedades infecciosas).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. Material y Métodos.

3.1. **Diseño.** El estudio está estructurado en dos partes, un estudio prospectivo observacional longitudinal y un estudio de intervención aleatorizado doble ciego de los 6 a los 12 meses. Este proyecto forma parte del estudio “*DeFensas*” Fig. 14.

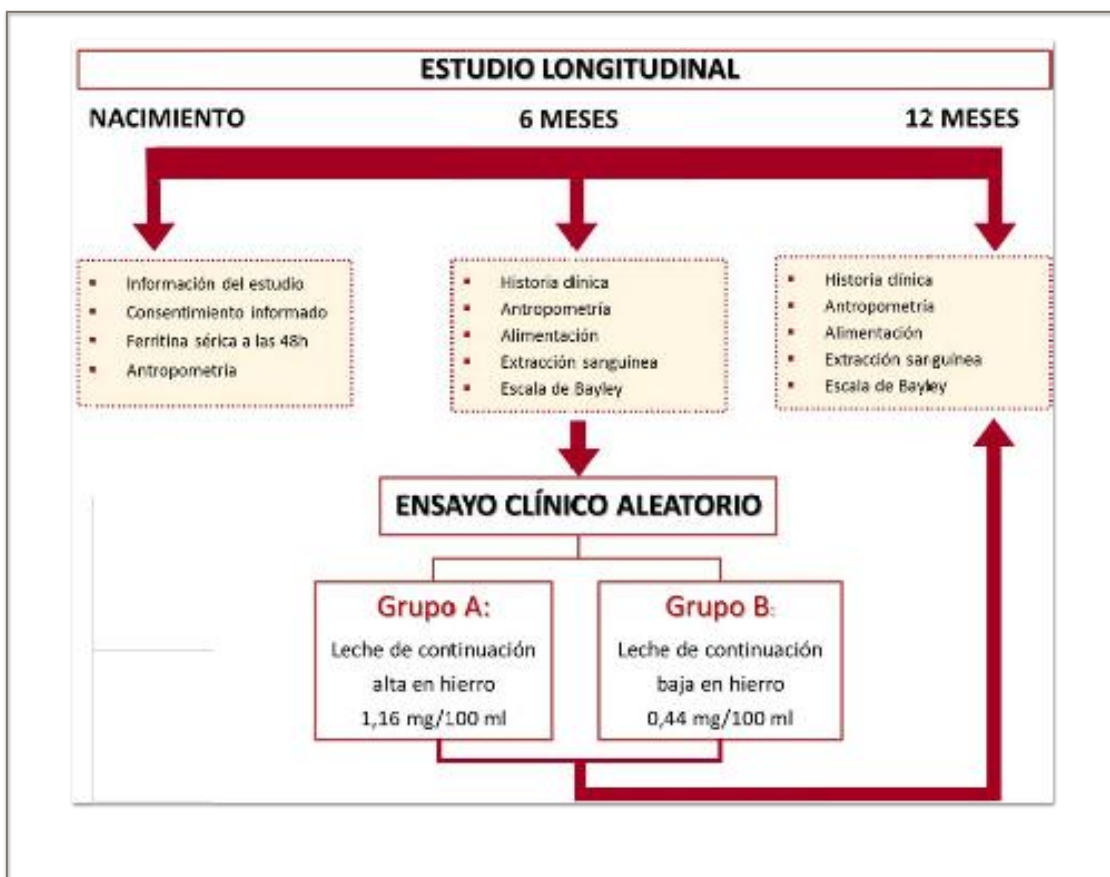
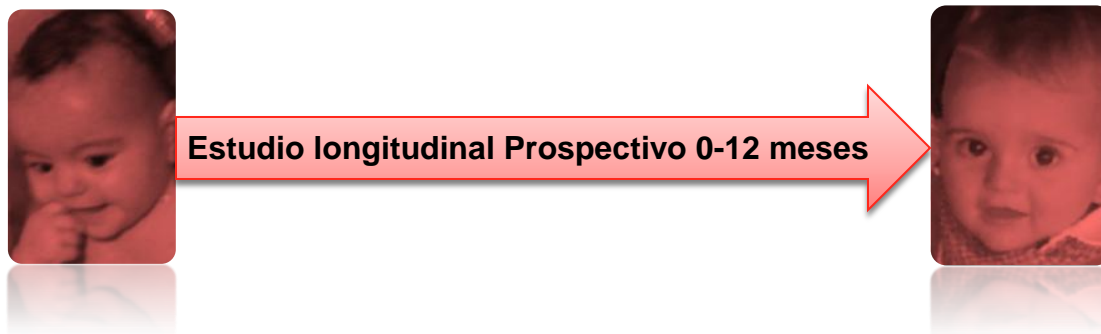


Fig.14. Esquema del estudio “*DeFensas*” de los 0 a los 6 meses.

El estudio "*DeFensas*" da continuidad a una línea de investigación en nutrición y salud, que incluía inicialmente dos proyectos: "*NutFe*" y "*NutCIR*", financiados por el fondo para Investigaciones Sanitarias del Instituto Carlos III, (PI 052462) y por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF2005-05096).

En ambos estudios, han participado investigadores de la Unidad de Ginecología y Obstetricia del Hospital S. Joan de Reus (Tarragona), en colaboración en el estudio "*NutFe*" con el grupo NUTRISAM y por el departamento de Psicología de la Universidad Rovira i Virgili; y en el estudio NutCIR con investigadores de la Unidad de Medicina Preventiva de la Universidad Rovira i Virgili. La población de estudio es la misma para los dos proyectos ("*NutFe*" y "*NutCIR*"), madres gestantes sanas mayores de 18 años, incluidas en el estudio en la semana diez - once de gestación.

En total se incluyeron 301 gestantes, que fueron seguidas desde la semana once de gestación hasta los 3-5 días postparto. El objetivo de estos proyectos ("*NutFe*" y "*NutCIR*") fue estudiar la relación de factores nutricionales y bioquímicos en diferentes periodos de la gestación con aspectos neonatales (edad gestacional del recién nacido, peso al nacimiento y el comportamiento neonatal inmediato).

El estudio "*DeFensas*" recoge a los niños incluidos en el estudio "*NutFe*" y realiza un seguimiento longitudinal de estos niños desde el nacimiento hasta los 3 años de vida, con el objetivo de estudiar la relación del metabolismo del hierro con la alimentación, el desarrollo físico, desarrollo psicomotor y neuroconductual de estos niños.

El presente proyecto de investigación objeto de tesis doctoral, recoge una muestra de niños pertenecientes al estudio "*DeFensas*" reclutados en la Unidad de Pediatría del Hospital Universitari Sant Joan de Reus (Tarragona), desde el 2006 hasta el 2009 y seguidos desde el nacimiento hasta el año de vida, con el objetivo de estudiar la relación del metabolismo del hierro con la alimentación, el desarrollo físico y la respuesta inmunitario del lactante. Ha sido llevado a cabo por investigadores del grupo de investigación de Nutrición y Salud Mental (NUTRISAM) de la "Universitat Rovira i Virgili", en colaboración con investigadores de la unidad de Pediatría del Hospital S. Joan de Reus (Tarragona).

3.2. Población de estudio.

3.2.1. **Sujetos del estudio.** Nuestra población incluye RN a término, hijos de madres que participaron en el estudio nutricional “*NutFe*”, llevado a cabo por el Servicio de Ginecología y Obstetricia de Hospital Universitario Sant Joan de Reus, y por la Unidad de Medicina Preventiva en colaboración con la unidad de Salud Pública y Nutrición de la “Universitat Rovira i Virgili”(PI 052462). Son RN, sanos, hijos de madres gestantes residentes en la ciudad de Reus (Tarragona), madres caucásicas mayores de 18 años, con embarazo único y sin patología previa con parto en el Hospital Sant Joan de Reus.

3.2.2. **Criterios de inclusión.** Se incluyeron todos los neonatos sanos hijos de madres que participaban en el estudio “*NutFe*”, con edad gestacional superior o igual a 37 semanas, y con peso igual o superior a 2.500 gramos.

3.2.3. **Criterios de exclusión.** Quedaron excluidos del estudio recién nacidos de bajo peso para edad gestacional, y o prematuros, niños con anemia o enfermedad hemolítica del recién nacido, recién nacidos con defectos congénitos mayores, inmunodeficiencia, hipotiroidismo o trastornos neurológicos, y aquellos neonatos con patología que preciso ingreso en la Unidad de Cuidados Neonatal.

El reclutamiento de los participantes se realizó en el postparto inmediato, a las 24-48 horas de vida del recién nacido con seguimiento hasta los 12 meses de vida. Previo a la inclusión de los RN, se solicitó firma de consentimiento informado por los padres, de acuerdo con la declaración de Helsinki.

El presente estudio fue aprobado por el comité de Ética y comité de Investigación del propio hospital Sant Joan de Reus.

3.3. Método de recogida de datos.

La recogida de información se realizó mediante entrevista directa con los padres, siguiendo cuestionarios estandarizados de recogida de datos, exploración física (anexos.II y III), y análisis de las muestras sanguíneas. Durante el seguimiento longitudinal, se realizaron seis visitas y tres extracciones sanguíneas.

Los cuestionarios de recogida de datos fueron utilizados para el registro de los procesos infecciosos, vacunaciones y alimentación, eran rellenados por los padres, tras realizar un adiestramiento por los investigadores.

Cronograma de visitas : visita 0 (recién nacido), Visita 1 (al mes de vida), visita 2 (a los 3 meses de vida), Visita 3 (a los 6 meses de vida con randomización en los lactantes alimentados con LA con mayor o menor aporte de hierro), visita 4 (a los 9 meses de vida), visita 5 (a los 12 meses de vida).

La entrevista que incluía la historia clínica, fue realizada en todos los casos por un pediatra y un nutricionista (anexos.II y III)

Los entrevistadores, dos pediatras y dos nutricionistas eran investigadores del estudio y siguieron un método estandarizado de recogida de las variables del estudio. La historia clínica incluía datos socio-demográficos: edad, sexo y nivel socioeconómico de los padres, así como, antecedentes clínicos personales y familiares (anexos.II.III.IV).

Registro alimentario. Se registró en la entrevista del mes, 3, 6, 9 y 12 meses de vida. Se realizó registro dietético de tres días, los padres realizaban un registro de la alimentación recibida por los lactantes los tres días previos a la entrevista con los investigadores. Así mismo, se facilitó a la familia un diario, donde anotaban la introducción de nuevos alimentos en la dieta de los niños (anexo V).

La introducción de nuevos alimentos se especificaba en las visitas realizadas por los investigadores y se realizaba de forma estandarizada según las recomendaciones de las Sociedades científicas, y además se entregaban las pautas de introducción de alimentación de forma escrita (anexo. V). Así, en los lactantes que seguían LM se recomendó mantener esta de forma exclusiva hasta los 6 meses; y a partir de los

6 meses se indicaba la introducción de alimentos sólidos. En los alimentados con LA, se iniciaba la alimentación complementaria a los 4 meses según recomendaciones.

Registro de infecciones y vacunas. Se registró en la entrevista del mes, 3, 6, 9 y 12 meses de vida. Se realizaron cuestionarios protocolizados de seguimiento mensual con entrevista y recogida presencial de los datos en las visitas presenciales (anexo. 6). Se facilitó a la familia un cuestionario, donde anotar los procesos infecciosos y la temperatura corporal, así como el momento de vacunación del lactante (anexo. 6), y la necesidad de asistencia por su pediatra, urgencias y hospitalización. También se registró, el momento de inicio de la asistencia a guardería.

Examen Físico. Medidas antropométricas: peso, talla y perímetro cefálico. Las medidas antropométricas fueron realizadas por las mismas personas que realizaban el seguimiento y siempre de forma estandarizada.

Extracciones analíticas: fueron realizadas en la visita 0 (RN), Visita 3 (6 meses de vida), y visita 5 (12 meses de vida). Las extracciones fueron realizadas en el Hospital Sant Joan de Reus a primera hora de la mañana y por personal especializado, (ISO 9001-2008). A las 48 horas del nacimiento se realizó la determinación de ferritina, mediante punción cutánea en el talón, coincidiendo con la realización de las pruebas de detección precoz de las enfermedades metabólicas congénitas. Se extrajo una muestra de 0.5 ml.

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. Del primer tubo (EDTA-K2) se determinó el hemograma, hematocrito, la hemoglobina, y los índices eritrocitarios. El plasma se separó mediante centrifugado durante 15 minutos a 2.000 revoluciones y a 40°C. El plasma sobrenadante se extrajo con cuidado de no aspirar la capa fina de leucocitos que la separa de los eritrocitos, posteriormente se alicuotó en criotubos y se guardó a -80°C hasta el momento de las determinaciones bioquímicas del hierro y el

estudio de citocinas y hepcidina. Las muestras se procesaron y se conservaron en el laboratorio de investigación del mismo hospital (Biobanc-IRCIS). Para todas las determinaciones se calculó el coeficiente de variación intra e inter-ensayo y se aceptó un coeficiente de variación intra-ensayo según las recomendaciones de los fabricantes de los “kit” utilizados.

Las determinaciones bioquímicas de todas las muestras fueron realizadas por una misma persona en la misma serie de determinaciones para evitar el posible efecto de la variación inter-ensayo sobre los cambios longitudinales que nos interesaba investigar.

3.4. Variables del estudio.

Datos gestación y perinatales. En la recogida de datos del parto se registró el sexo, el resultado del test de Apgar a los 5 minutos. Paridad. Duración de la gestación. Antecedentes de patología gestacional y o perinatal (anexo.II).

Medidas antropométricas: peso, talla y perímetro cefálico

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

Longitud: 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.

Perímetro cefálico: la medición se realizó con una cinta métrica flexible con una precisión de 1 mm.

Nivel socio-económico de la familia se calculó según el índice de Hollingshead (1975). Este índice permitió estimar el estatus social de los individuos mediante la categorización de sus ocupaciones en nueve categorías (de trabajo no cualificado a trabajo altamente cualificado) y su nivel de educación en siete (de educación primaria no finalizada a educación superior completa). La puntuación del estatus social se

obtuvo multiplicando el valor de la escala de ocupación por cinco y el valor de la escala de educación por tres y luego combinando las dos puntuaciones. A partir del valor máximo posible, se dividió entre tres para establecer las categorías: bajo, medio y alto nivel socioeconómico (anexo. 3).

Variables Bioquímicas e Inmunológicas.

-Hierro sérico 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+ a hierro 2+, mediante la hidroxilamina. El hierro 2+ reacciona con el compuesto Ferene, formando un complejo de color que absorbe la luz a 600 nm, (ITC Diagnostics S.A, Barcelona, España), mediante espectrofotometría por métodos estándar.

-Transferrina sérica mediante inmunoprecipitación en fase líquida con una lectura turbidimétrica a punto final (510 nm). Un antisuero antitransferrina se diluye en tampón y se incuba con el suero del sujeto. El descenso en la transmisión de la luz causada por la formación de complejos antígeno-anticuerpo es directamente proporcional a la concentración de transferrina de la muestra (Biokit S.A., Barcelona).

-Ferritina sérica (FS) se determinó mediante inmunoquimioluminiscencia y la transferrina sérica (Biokit S.A., Barcelona, España) y el hierro sérico (ITC- Diagnostics S.A, Barcelona, España), mediante espectrofotometría por métodos estándar.

-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.

-Perfil hematológico completo mediante un analizador Coulter GENS (Coulter Hialeah, FL, USA) Mediante el autoanalizador Beckman-Coulter también se determina la hemoglobina, el hematocrito, el VCM. Hb y la concentración de hemoglobina corpuscular media.

-Reacción de la Polimerasa en cadena (PCR) en suero por técnica de inmunoturbidimetría. La proteína C reactiva reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez provocada por este inmunocomplejo es proporcional a la concentración de PCR en la muestra y puede medirse espectrofotométricamente. Valores de referencia de 0 - 5 mg/l.

-Determinación de inmunoglobulinas séricas: inmunoglobulinas: IgA, IgM, IgG- (inmunoturbidimetría y en caso necesario necesario nefelometría) La inmunoglobulina reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez provocada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de Ig en la muestra y puede medirse espectrofotométricamente.

La Nefelometría, se define como la detección de la energía lumínica dispersa o reflejada hacia un detector que no se encuentra en el camino directo del haz luminoso. Las mediciones nefelométricas son más adecuadas para medir muestras cuya concentración de partículas es baja y se utilizó en caso de la detección de niveles por debajo del límite inferior en la técnica de inmunoturbidimetría). La determinación de IgE se llevó a cabo por enzimo-inmunoanálisis por quimioluminiscencia. En este método, la muestra del paciente o el control, se agrega al pozo previamente impregnado con streptavidin. La reacción entre los anticuerpos IgE y los nativos de IgE, forman un complejo que se unirá a los pozos. Otra enzima etiquetada con anticuerpo monoclonal específico de IgE, es agregado a los pozos, esta enzima etiquetada con anticuerpo, se liga al del IgE actualmente inmovilizado en el pozo a través del cual se une al anticuerpo monoclonal biotinilado. El exceso de enzima es lavada por medio de un paso de lavado. Una señal de luz es generada por la adición de un sustrato, y la intensidad de la generación de luz es directamente proporcional a la concentración de la IgE en la prueba.

-Determinación de Hecpidina sérica: se realizó mediante ELISA, DRG hepcidin ELISA kit. [®] 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.

-Determinación de citocinas: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-2, INF- γ , TNF- α , TNF - β , por técnica de citometría de flujo, mediante Flow Cytomix Multiple® 11-Th1/Th2 & MCP-1. Los inmunoensayos de multi-analitos FlowCytomix permiten la detección cuantitativa simultánea de hasta 20 analitos diferentes a partir de una sola muestra de 25 μ L en una variedad de muestras que incluye sangre, suero, y el sobrenadante de cultivo de tejidos. Los Multiplex -Ready -to- Use- Kits están configurados de forma que todas las bolitas de captura recubiertas de anticuerpos anti-citocina están premezcladas en un solo tubo, todos los anticuerpos de detección conjugados premezclados en un solo tubo y una mezcla liofilizada de todos los estándares por duplicado. Esto facilita notablemente el desarrollo de la técnica. El kit human Th1/Th2 11plex FlowCytomix Multiplex Ready To Use permite la detección de 11 citocinas a la vez, permitiendo la identificación del perfil Th1 y Th2 en la muestra del estudio. Para el análisis de datos se realizó el estudio cuantitativo y se asignó a los niveles de citocinas por debajo del rango de detección, el valor de la sensibilidad de referencia de cada citocina (tabla.10).

CITOCINA	SENSIBILIDAD
IFN- Γ	1.6 pg/ml
IL-1B	4.2 pg/ml
IL-2	16,4 pg/ml
IL-4	16.4 pg/ml
IL-5	20.8 pg/ml
IL-6	1.6 pg/ml
IL-8	0.5 pg/ml
IL-10	1.9 pg/ml
IL-12	1.5 pg/ml
TNF-A	3.2 pg/ml
TNF-B	2.4pg/ml

Tabla.10. Sensibilidad de las diferentes citocinas (pg/ml).

Variables Definidas

•Metabolismo del Hierro.

Se definieron los siguientes criterios de deficiencia de hierro, ferropenia y anemia según criterio OMS (WHO, 2001).

- **Ferropenia** definida por valores disminuidos de ferritina inferior a 40 $\mu\text{g/L}$ al nacimiento, o una ferritina inferior a 12 $\mu\text{g/l}$ a los 6 y 12 meses, (OMS, 2002).
- **Sobrecarga de hierro**, si la cifra de ferritina estaba por encima de 83 $\mu\text{gr/L}$ a los 6 meses y 120 $\mu\text{gr/L}$ a los 12 meses.
- **Hierro bajo**, si el hierro plasmático era inferior a 3.2 mmoL /L (11 mg/dL), Saturación de transferrina (ST) <10% y la transferrina superior a 347 mg/dL para todas las edades estudiadas, (Dallman,2008)

- **Anemia**, se definió por valores de hemoglobina sérica menores a 11 gr/l, para todas las edades estudiadas. Los lactantes diagnosticados de anemia fueron tratados según las recomendaciones de las Sociedades Científicas. (OMS, 2002).
- **Anemia Ferropénica**, se definió por valores de hemoglobina sérica menores a 11 gr/l y ferritina inferior a 12ug/l.

Tipo de Alimentación

Se definió la **lactancia materna exclusiva**, como la alimentación exclusiva durante seis meses con leche materna. Para el análisis de los datos que hace referencia a la alimentación, se incluyeron únicamente los lactantes que habían sido alimentados con lactancia materna (LM) exclusiva o aquellos que seguían desde el nacimiento fórmula adaptada (LA) y que fueron incluidos en el grupo de lactancia artificial. De tal manera, que se clasificó el modo de alimentación en LM exclusiva o LA con la intención de evitar posibles sesgos en el análisis estadístico.

Procesos Infecciosos, inflamación

Se incluyeron todos aquellos procesos infecciosos que asociaban fiebre definida como temperatura axilar mayor o igual a 37 °C ($T^a_{ax} \geq 37^{\circ}C$).

Para el análisis se agruparon en cuatro grandes grupos:

- Lactantes con síndrome febril inespecífico donde incluimos los niños con infecciones de la vía aérea superior, virasis generalizadas, Las virasis inespecíficas y o síndromes febriles, se agruparon para el análisis final junto a los catarros de vías altas, dada la dificultad para algunos padres de disociar ambos procesos.
- Lactantes con infecciones de vías respiratorias inferiores, tales como neumonías, bronquitis infecciosas o bronquiolitis.
- Lactantes con infecciones bacterianas invasivas, donde se incluyeron los niños con infecciones urinarias, meningitis, sepsis o infecciones osteoarticulares.

- Lactantes con gastroenteritis aguda. Solo se incluyeron aquellos asociados a fiebre en el análisis final de resultados. Se decidió no incluir el resto, ante la posibilidad de que fueran mal interpretados por los padres, (estos procesos en los primeros meses, pueden ser percibidos de diferente manera por las madres que lactan o por las que no) y así, minimizar los sesgos de definición, ´consideramos apropiado excluirlos para el análisis de la variable infección.
- Se definió la presencia de **inflamación** como PCR superior a 10 mg/L (Grajeda, Pérez-Escamilla, & Dewey, 1997), (Asobayire, 2001).
- Se definió **Infección del tracto urinario** (ITU), como la existencia de fiebre ($T^a > 37^{\circ} C$) y un urinocultivo positivo.
- Se definió **Gastroenteritis aguda** (GEA), como la existencia de deposiciones diarreicas y o vómitos asociados a fiebre ($T^a > 37^{\circ} C$).
- Se definió **hospitalización**, como el ingreso en un hospital durante al menos 24 horas, bajo observación y tratamiento médico.

En cuanto a las **infecciones respiratorias** se definieron los variables: catarro de vías altas, neumonía, bronquiolitis, bronquitis, y hospitalización. Estos procesos fueron definidos de modo preciso:

- **Catarro de vías altas**, proceso infeccioso que afecta a las vías respiratorias superiores, y que cursa con fiebre ($T^a > 37^{\circ} C$).
- **Neumonía**: infección de vías respiratorias bajas que cursa con tos, fiebre y auscultación patológica siendo imprescindible para el diagnóstico una radiografía de tórax alterada o un diagnóstico clínico médico.
- **Bronquiolitis**, se define como el primer episodio agudo de sibilancias en un niño/a menor de 24 meses, disnea espiratoria y existencia de pródromos catarrales. Se clasifico como grave si era subsidiaria de ingreso hospitalario.

En el presente estudio se determinaron los niveles de referencia de hepcidina a los 6 y 12 meses de vida, en los lactantes sin anemia, ni ferropenia y PCR<10 mg/ dl, con la finalidad de descartar los niveles de hepcidina que pudieran estar alterados por estados inflamatorios basales o estados carenciales de hierro.

3.5. Descripción y definición de la intervención

El estudio de intervención consistía en valorar el efecto de la suplementación a diferentes dosis de hierro, ambas, dentro de los límites recomendados por las sociedades científicas ref., sobre el desarrollo del niño.

La intervención se realizó a los 6 meses e incluyó a todos los lactantes de la muestra que continuaban en seguimiento a esta edad y que recibían alimentación con LA. A partir de los 6 meses, a todos los participantes, se les daban cereales fortificados de la misma marca comercial, presente en el mercado y aquellos lactantes alimentados con LA, fueron randomizados a doble ciego, en dos grupos: el grupo asignado como “leche roja” en la intervención que recibió fórmula adaptada con bajo contenido en hierro (0,44/100ml), y el grupo asignado como “leche verde” que recibió fórmula con alto contenido en hierro (1,16/ 100ml).

La distribución de los grupos de intervención se realizó mediante aleatorización individual con tabla de aleatorización doble ciego, que asignaba al orden numérico de inclusión en la intervención a los 6 meses el color rojo o el color verde de forma aleatoria. La fórmula con alto contenido en hierro (1,16/ 100ml) asignada como verde coincidía con la formula presente en el mercado de la casa comercial.

En el trascurso del proyecto hubo dificultades para el suministro de la leche con bajo contenido de hierro, por lo que la intervención solo se pudo llevar acabo de forma aleatorizada y doble ciego en 60 niños, al resto de niños incluidos en el protocolo con LA (n=38), se les suministro fórmula con alto contenido en hierro (1,16/100ml) asignada como verde, y que coincidía con la formula presente en el mercado, con distribución de los grupos en una randomización 3:1 para el análisis final.

3.6. Descripción del seguimiento de los pacientes

La primera visita, visita 0, se realizó en el momento de inclusión al estudio, en las primeras 24- 48 h de vida del neonato. Esta visita incluía la solicitud del consentimiento informado (anexo.I), y en caso de aceptación e inclusión se iniciaba el protocolo de estudio.

Visita 0, Recién nacido :

- o Inclusión en el estudio: Consentimiento informado y hoja de información a los padres. Datos demográficos de los padres.
- o Historia clínica materna y perinatal.
- o Antropometría del recién nacido. Exploración física.
- o Registro de alimentación (LM y o LA).
- o Estudio del estado de Hierro: Ferritina Sérica (FS) en sangre de talón.

Visita 1, Al mes de vida :

- o Antropometría del recién nacido. Exploración física.
- o Registro de alimentación (LM y o LA).
- o Registro de infecciones y vacunaciones.

Visita 2, Tres meses de vida :

- o Antropometría del recién nacido. Exploración física.
- o Registro de alimentación (LM y o LA).
- o Registro de infecciones y vacunaciones.

Visita 3, Seis meses de vida :

- o Antropometría del recién nacido. Exploración física.
- o Registro de alimentación (LM y o LA).
- o Registro de infecciones y vacunaciones.
- o Analítica sanguínea: hemograma, Parámetros bioquímicos hierro, hepcidina, citocinas, PCR.
- o Si LA aleatorización para estudio de intervención.

Visita 4. Nueve meses de vida:

- o Antropometría del recién nacido.
- o Exploración física.
- o Registro de alimentación.
- o Registro de infecciones y vacunaciones.

Visita 5. Doce meses de vida:

- o Antropometría del recién nacido
- o Exploración física.
- o Registro de alimentación.
- o Registro de infecciones y vacunaciones.
- o Analítica sanguínea: hemograma, Parámetros bioquímicos hierro, hepcidina, citocinas, PCR.

3.7. Análisis Estadístico.

Las variables cualitativas se presentan en porcentajes y se compararon mediante el test de chi-cuadrado. Se analizaron las características de la distribución de las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Estas variables se presentan como media \pm desviación estándar cuando tenían una distribución normal o como mediana (intercuartil 25-75%) cuando tenían una distribución asimétrica. Las variables cuantitativas se compararon utilizando el test T de Student cuando tenían una distribución normal o mediante el test de U de Mann-Whitney cuando tenían una distribución asimétrica. Cuando se comparó la evolución temporal de las variables cuantitativas se utilizó el test T de Student para datos apareados en las variables con distribución normal o el test de Wilcoxon para las variables con una distribución asimétrica. Las principales variables cuantitativas analizadas mostraban una distribución claramente asimétrica y no cumplían criterios normalidad, por lo que la mayoría de análisis se realizaron con los test no paramétricos descritos anteriormente. Por esta razón se analizó la correlación entre diversas variables cuantitativas mediante el test Rho de Spearman. Finalmente, se realizó un análisis multivariante mediante una regresión logística para identificar las variables que tenían una relación independiente con el riesgo de infección respiratoria. Se introdujeron en el análisis multivariante las variables que tenían un valor de $p < 0.10$ en el análisis univariante. Para el estudio de asociación entre dos variables dicotómicas se utilizó la odds ratio. Se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas cuando la p era menor de 0.05. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS 22.0.

4. RESULTADOS.

4. Resultados.

4.1. Características de la muestra.

Se reclutaron un total de 154 madres, con una edad media de 32.7 años (DE 4,1). Respecto al nivel socioeconómico, un 62% (n=95) se encuadraban en un nivel medio, un 32 % (n=49) en un nivel alto y un 6% (n=10) en un nivel bajo (tabla 11). En cuanto al parto, un 59% (n= 90) fueron eutócicos, un 15% (n= 24) cesáreas y en un 26% (n = 40) se utilizaron fórceps. El 77% (n=96) de las madres eran primíparas.

Características Demográficas de las Madres	N=154
Edad (años)	32,7±4,1
Nivel socio-económico	62% Medio 32% Elevado 6% Bajo
Primíparas	n= 96 (77%)

Tabla. 11. Características demográficas de las madres de la muestra
(Media ± desviación estándar o % para las variables categóricas).

Del total de RN reclutados al inicio del estudio (n= 154), se excluyeron 16 (10,3%) por cumplir con diversos criterios de exclusión: 7 (5%) recién nacidos (RN) por prematuridad, 6 (4%) por bajo peso y 3 (2%) por patología neonatal grave. Del total de la muestra restante (n= 138), se excluyeron del análisis de resultados un total de 14 (10%) RN por no haber completado el seguimiento. De éstos 8 (5,7%) se excluyeron antes de los 6 meses y 6 (4,3%) antes de los 12 meses. Por tanto, la muestra analizada final fue de 124 RN sanos de ambos sexo (43% niños, 57% niñas). Figura. 15.

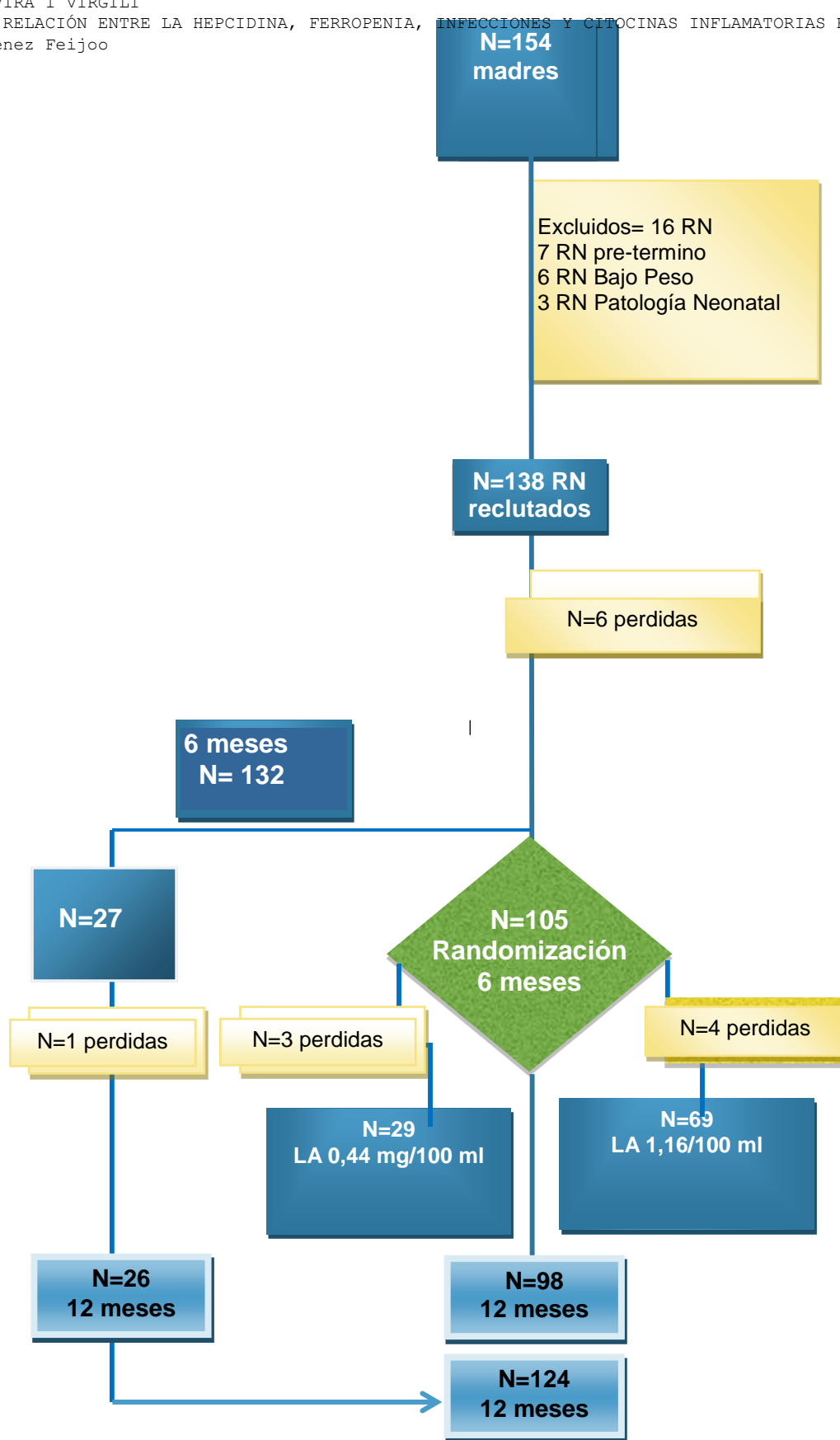


Fig.15- Diagrama de flujo de participantes.

La mediana de edad gestacional fue de 39 semanas (DE=1,2) y el peso al nacimiento 3.232 gr. (DE \pm 548). El resto de características antropométricas de los RN se muestran en la tabla 12.

Variables al nacimiento	N= 124
Peso (gr)	3232 \pm 548
Talla (cm)	49,6 \pm 2,3
Perimetro Cefálico (cm)	34,3 \pm 1,6
Peso Placenta	639,02 \pm 133,5
Apgar 5´	9,7 \pm 0,43
Sexo (varón)	54 (43%)

Tabla. 12. Características al nacimiento de la muestra
(media \pm desviación estándar o n (%) para las variables categóricas).

El puntaje z describe unas características antropométricas muy próximas a las medias poblacionales tomando como referencia los datos OMS. Tablas 13, 14 y 15.

Somatometría (nacimiento)	Niñas N= 70	z score	Niños N= 54	z score
Peso (gr)	3356±488	-0,19±1,22	3200±430	0 ± 1,0
Talla (cm)	49,6±2,5	0,26±0,98	48,6±2,1	-0,18±1,28
PC (cm)	34,5±1,7	1,17±1,8	34±1,5	0,05±1,33

Tabla. 13. Características de la muestra al nacimiento por sexo en comparación z score, (media ± desviación estándar) .PC: perímetro craneal.

Somatometría (6 meses)	Niñas N=70	z score	Niños N= 54	z score
Peso (gr)	8254±982	-0,25±2,51	7621±796	0,35±1,17
Talla (cm)	68,3±3,1	0,30±0,84	66,4±1,9	0,18± 1,43
PC(cm)	44,3±1,6	0,90± 2,49	43,0±1,3	1,10±2,73

Tabla. 14. Características de la muestra a los 6 meses por sexo en comparación z score (media ± desviación estándar). PC: perímetro craneal.

Somatometría (12 meses)	Niñas N= 65	z score	Niños N= 49	z score
Peso (gr)	10125±665	1,25±3,9	11130±435	1,5±2,3
Talla (cm)	75,3±3,4	1,15±0,8	76,2±1,8	0,5±0,9
PC (cm)	45 ±2,1	0,1±1,1	46,3±1,3	0,2±0,7

Tabla. 15. Características de la muestra comparada los 12 meses (media ± desviación estándar). PC: perímetro craneal.

4.2. Procesos infecciosos. Inflamación.

El 50% (n= 62) de los niños incluidos en el estudio presentó infecciones durante el primer año de vida, con una mediana de 2 procesos. Un total de 39 niños tuvieron episodios de bronquitis aguda (32%), 13 niños presentaron algún episodio de bronquiolitis (11%), 13 (11%) gastroenteritis aguda (GEA), 8 (7%) presentaron otitis media aguda (OMA) y 6 (5%) presentaron infección del tracto urinario (ITU). Un 7% (n=8) de los niños requirió ingreso hospitalario, siendo el proceso que motivo el ingreso: bronquiolitis en 4 lactantes, bronconeumonía en 3 y GEA en uno.

Factores de riesgo asociados a procesos infecciosos.

Los procesos infecciosos durante el primer año de vida fueron significativamente más frecuentes entre los niños que asistieron a la guardería y entre los niños alimentados con fórmula adaptada respecto a los alimentados con lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses de vida. Así mismo, se observó una tendencia a la significación entre tener hermanos y el desarrollo de procesos infecciosos (tabla 16).

Variable	Presente	Ausente	p
Lactancia materna	11/35 (31%)	43/75 (57%)	0,01
Guardería	19/25 (76%)	35/84 (42%)	0,003
Hermano	20/32 (63%)	35/79 (44%)	0,08
Ferropenia (6 meses)	5/6 (83%)	51/110 (46%)	0,07
Anemia (6 meses)	7/20 (35%)	48/96 (50%)	0,15
Ferropenia (12 meses)	10/20(50%)	37/81(46%)	0,78
Anemia 12 meses	0/4 (0%)	47/98 (47%)	
Ferropenia y o anemia 6 y o 12 meses	10/38 (26%)	18/65(28%)	0,88
Ferropenia 6 y o 12 meses	13/24(54%)	35/78(45%)	0,43

Tabla. 16. Análisis de la influencia de las diferentes variables en el desarrollo de infecciones.
 LM: lactancia materna

El análisis de regresión mostró que la asistencia a la guardería se relacionaba de forma positiva e independiente (OR=4.55, intervalo de confianza 25-75%, IC (1,51-13,68); p= 0.007, y la lactancia materna de forma negativa e independiente con el riesgo de sufrir procesos infecciosos (OR=0.26, IC (0,10-0,67), p=0.005.

Respecto a la variable inflamación definida como una PCR>10mg/l, un total de 23 lactantes (18,5%) tuvieron una cifra de PCR superior a este valor.

En la literatura científica encontramos autores que han definido inflamación según rango de referencia de la PCR (0 - 5 mg/l), es decir, valores de PCR superiores a 5 mg/l, si aplicamos este criterio a nuestra muestra, encontramos un total de 41 lactantes (33%) con inflamación (valores superiores a 5 mg/L.)

Respecto a la relación de la ferritina y hemoglobina con la proteína C reactiva, se observó una relación inversa y significativa con la concentración de hemoglobina a los 6 meses y una correlación directa y significativa con la ferritina a los 6 y 12 meses de vida. Tablas 17.

PCR (mg/dl)		
Variable (pg/ml)	Rho	p
Hemoglobina 6 meses	-0.25	0,002
Hemoglobina 12 meses	0	0,93
Ferritina 6 meses	0.74	<0.001
Ferritina 12 meses	0.3	0,006

Tabla 17. Análisis de la influencia de la PCR en la hemoglobina y ferritina a los 6 y 12 meses de vida. Rho: coeficiente de correlación.

4.3. Alimentación de los lactantes.

El 75% del total de los RN reclutados recibieron LM inicialmente, prevalencia que disminuyó al 49% a los 3 meses y al 23% a los 6 meses. Un 23% (n=35) de los lactantes de nuestro estudio realizó LM exclusiva hasta los 6 meses mientras que el 48% (n=75) recibió LA a los 6 meses.

Influencia de la alimentación en el desarrollo físico del lactante

No se objetivaron diferencias significativas en el desarrollo físico ni a los 6 meses ni a los 12 meses de vida entre los lactantes alimentados con lactancia materna exclusiva durante 6 meses y los alimentados con fórmula adaptada. Tablas 18.

Variables	LM (n=35)	LA (n=75)	p
Peso nacimiento (gr.)	3,216 ± 2,254	3,224 ± 2,372	0,96
Talla nacimiento (cm.)	48,9 ± 2,637	49,2 ± 2,217	0,28
PC nacimiento (cm.)	34,7 ± 1,69	33,99 ± 2,489	0,20
Peso 6 meses (gr.)	7,302 ± 2,372	7,281 ± 2,254	0,96
Talla 6 meses (cm.)	67,81 ± 2,254	66,86 ± 2,996	0,14
PC 6 meses (cm.)	43,51 ± 1,5	43,98 ± 3,064	0,48

Tabla. 18. Características antropométricas de los recién nacidos al nacimiento y a los 6 meses de vida, en función del tipo de alimentación.

Media ± desviación estándar. PC: perímetro craneal.

Relación entre el tipo de alimentación y el metabolismo del hierro.

A los 6 meses se objetivaron menores niveles de hemoglobina y mayor presencia de anemia en los niños alimentados con LM exclusiva frente a los alimentados con LA. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la presencia de ferropenia (tabla 19), Figura 16.

Variable	Lactancia materna (n=35)	Fórmula adaptada (n=75)	P
Ferritina RN ($\mu\text{gr/L}$)	256 \pm 106	275 \pm 151	0,621
Ferritina ($\mu\text{gr/L}$)	29,35 (19,43-52,15)	30,9 (21,2=46,0)	0,653
Saturación de transferrina (%)	16,6 \pm 7,2	18,5 \pm 8,7	0,263
Transferrina (gr/L)	2,4 (2,3-2,6)	2,5(2,3-2,7)	0,741
VCM	76,9 (73,9-79,6)	78,3 (75,8-80,40)	0,16
Hb (gr/dL)	11,3+0,81	11,96+ 0,83	<0.001
Ferropenia (FS<12)	2 (5,7%)	4 (5,3%)	1
Ferropenia (ST<10%)	7 (18%)	12 (22%)	0,600
Anemia (Hb<12gr/L)	12 (34,2%)	6 (8 %)	< 0.001
VCM <70	2 (5,7%)	1 (1,3%)	0,655
ADE	14.39 \pm 1.82	14 \pm 1.41	0.643

Tabla.19. Relación entre los parámetros hematológicos y bioquímicos del hierro con el tipo de lactancia a los 6 meses de vida. (Media \pm desviación estándar), n (%), según características de la variable). ADE. Amplitud de Distribución de los Eritrocitos.

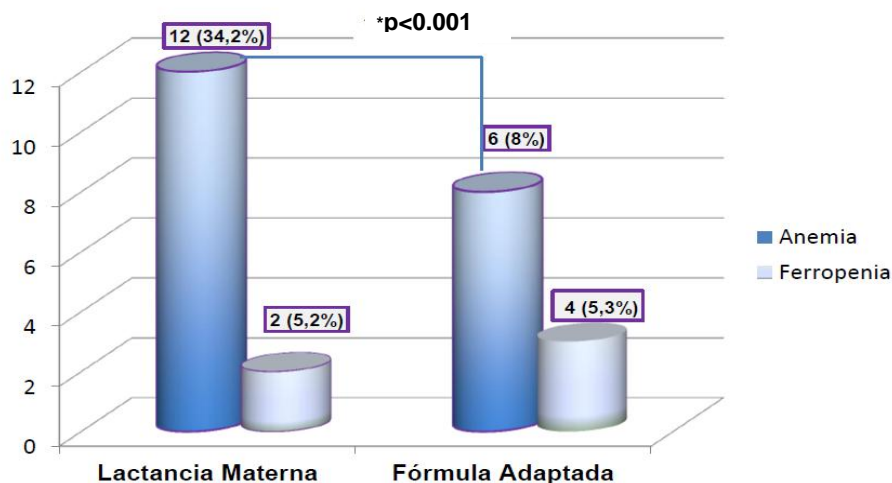


Figura. 16. Prevalencia de anemia y ferropenia en relación al tipo de lactancia a los 6 meses.

4.4. Evolución de los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo del hierro en relación a la edad.

En la evolución de estos parámetros entre los 6 y los 12 meses de edad se objetivó un incremento significativo en los valores de concentración de hemoglobina y un descenso significativo de los niveles de ferritina (fig.17).

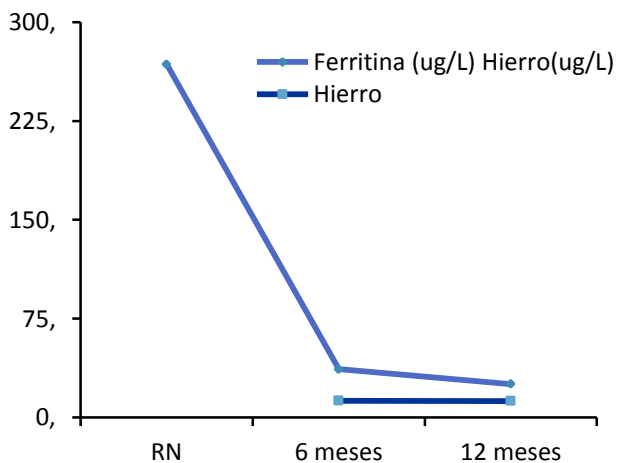


Figura. 17. Evolución en el tiempo de la concentración de hierro sérico y ferritina.

En las tabla 20 se describen los valores de los parámetros hematológicos (hematocrito, hematíes, VCM y hemoglobina) y bioquímicos (ferritina, hierro, transferrina) vinculados al estado del hierro en la población de estudio a los 6 y 12 meses de vida.

Variable	Recién nacido	6 meses	12meses	P
Ferritina (µg/L)	268 ± 137	36,66 ± 26,22	25,440 ± 28,14	0,001
Hierro sérico (µg/L)		12,78 ± 8,98	12,534 ± 5,48	0,801
Transferrina (g/L)		2,508 ± 0,40	2,948 ± 3,08	0,147
Sat. Transferrina %		17,59 ± 8,11	17,16 ± 7,62	0,376
Hematocrito %		34,71 ± 2,45	35,79 ± 2,29	0,515
Hemoglobina (g /dL)		11,78 ± 0,829	12,04 ± 0,783	<0,001
VCM (fL)		76,58 ± 10,89	79,50 ± 5,796	0,014
CHCM (g /dL)		35,75 ± 0,69	36,1 ± 2,5	0,371
ADE		14.39±1.79	14±1.82	0.470

Tabla. 20. Valores bioquímicos del estado del hierro al nacimiento, 6 y 12 meses, y del hemograma a los 6 y 12 meses de vida. (Media ± desviación estándar). ADE: amplitud de dispersión eritrocitaria.

En cuanto a la presencia de ferropenia y anemia a los 6 meses, un 7% de los lactantes presentó ferropenia y un 17% anemia, aunque sólo un 2% tenían anemia ferropénica. A los 12 meses se observó un incremento de la prevalencia ferropenia hasta el 20% y un descenso significativo de la prevalencia de anemia hasta el 3,5%, con valores similares de anemia ferropénica (tabla. 21).

Variable	6 meses	12 meses	P
Anemia	17% (n=19)	3,5% (n=4)	0,125
Ferropenia	7% (n=8)	20% (n=21)	0,001
Anemia Ferropénica	2% (n=3)	1% (n=1)	0,150

Tabla. 21. Datos de anemia, ferropenia y anemia ferropénica a los 6 y 12 meses, (%) n.

Al estudiar el nivel de anemia (según clasificación OMS) observamos que en la mayoría de casos se trataba de una anemia leve. Así, en todos los casos de anemia registrados a los 6 meses y la mitad (n =2) de los registrados a los 12 meses el nivel de anemia era leve (Hb entre 10 y 10,9 mg/dL). La restante mitad de casos objetivados a los 12 meses presentó una anemia moderada (Hb entre 7- 9,9) en el rango alto de este nivel (Hb registrada entre 9,6 y 9.9 mg/dL).

4.5. Hepcidina.

Niveles normales en nuestra población

En la tabla 22 se describen los valores de hepcidina a los 6 y a los 12 meses en lactantes sin anemia ni ferropenia (niños con Hb ≥ 11 y ferritina ≥ 12 , así como PCR < 10 mg/dL) de nuestra población. Respecto a su evolución temporal, entre los 6 a los 12 meses de vida se objetivó un incremento significativo de los niveles de hepcidina (fig.18)

Variable	6 meses (n=92)	12meses (n =100)	P
Hepcidina (ng/ml)	42 (35,73-52,84)	53,27 (41,56-73,47)	p<0,001

Tabla 22. Niveles de hepcidina en lactantes sanos a los 6 y 12 meses de vida (mediana (intercuartil 25%-75%)).

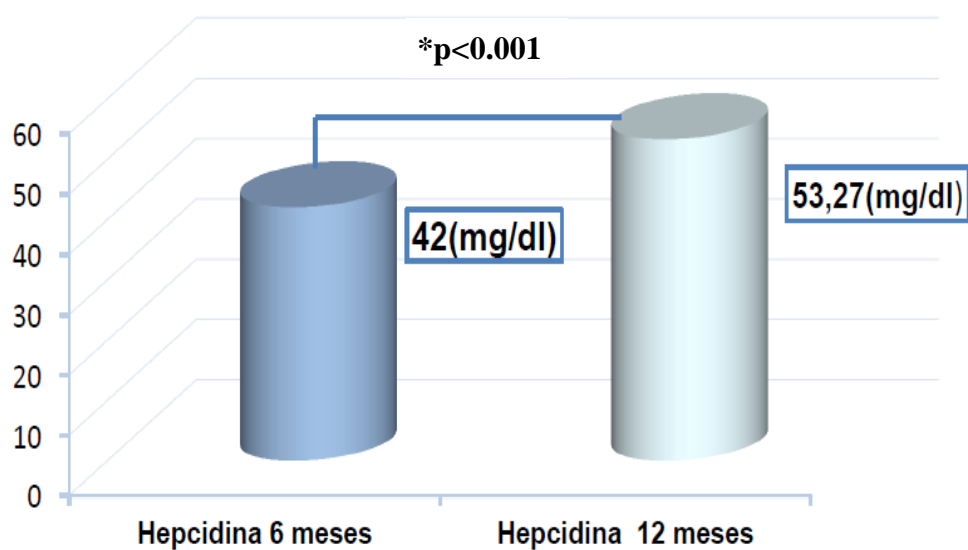


Figura.18. Niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses de vida

Variables relacionadas con los niveles de hepcidina

Analizamos la influencia de diferentes variables en los niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses. No se objetivaron diferencias significativas en los niveles séricos de hepcidina en función del sexo de los lactantes (tabla 23).

Variable	Varones	Hembras	P
Hepcidina 6 meses (ng/ml)	43,16 (35,50-53,19)	39,83 (35,74-52,91)	0,87
Hepcidina 12 meses (ng/ml)	49,13 (40,0-66,85)	54,73 (41,07-77,25)	0,43

Tabla.23. Niveles de hepcidina según el sexo a los 6 y 12 meses de vida. (Mediana (intercuartil 25%-75%)).

Respecto al tipo de alimentación, los lactantes alimentados con leche materna tenían unos niveles de hepcidina menores que los que recibieron lactancia artificial (tabla 24).

Variable	LM (N=32)	LA (N=70)	P
Hepcidina (ng/ml)	39,35 (29,2-50,1)	46,0 (37,8-60,2)	0,03

Tabla.24. Valores de hepcidina según alimentación con lactancia materna o fórmula adaptada a los 6 meses. Mediana (intercuartil 25%-75%).

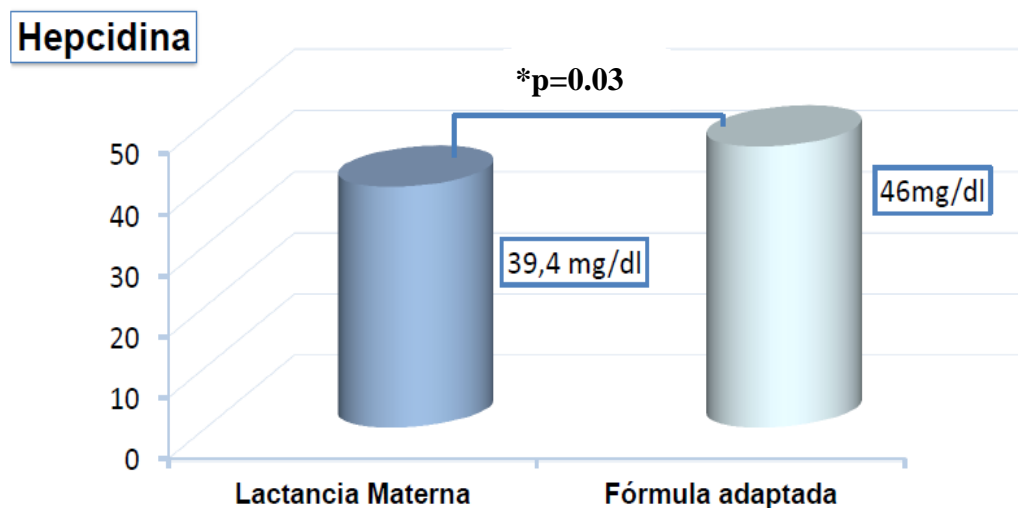


Figura.19. Niveles de hepcidina a los 6 meses de vida en función del tipo de lactancia

Variable	Hepcidina 6 meses (mediana ng/ml ± DE)	Hepcidina 12 meses (mediana ng/ml ± DE)	P
Lactancia Materna (n=32)	39,3 (29,1-50,1)	50,4 (39,8- 77,1)	<0,001
Lactancia Artificial (n=70)	46 (37,8-60,2)	55,6 (42,6-76,2)	0,007

Tabla. 25. Valores de Hepcidina según la alimentación con lactancia materna o fórmula adaptada. Mediana (intercuartil 25%-75%).

El incremento significativo de los niveles de hepcidina de los 6 a los 12 meses se observó tanto en el grupo de lactantes alimentados con lactancia materna como en el grupo alimentado con lactancia artificial (tabla 25). Sin embargo cabe destacar que este aumento de los niveles de hepcidina no se evidenció en los lactantes con anemia y o ferropenia (tabla 26).

Variable	Hepcidina 6 meses (mediana ng/ml ± DE)	Hepcidina 12 meses (mediana ng/ml ± DE)	P
Anemia (n=16)	42 (37.3-49)	42.5 (37.3- 51.9)	0.28
No anemia (n=76)	44.4 (36.7-56)	55,6 (42,8-76,2)	<0.001
Ferropenia (n=7)	45.2(33.1-50.7)	42.3(38.9-51.2)	0.74
No ferropenia (n=85)	42.8 (36.6-54.8)	54.5(41.6-75.9)	<0.001

Tabla. 26. Valores de Hepcidina según la presencia de anemia y o ferropenia.
(Mediana (intercuartil 25%-75%)).

Respecto a los parámetros bioquímicos del hierro, no se observó correlación de la hepcidina con ninguno de estos parámetros, ni a los 6 ni a los 12 meses (tabla. 27). No se observaron tampoco diferencias significativas en los niveles de hepcidina dependiendo de la presencia de ferropenia. Sin embargo, sí se objetivaron niveles significativamente menores de hepcidina a los 12 meses en relación a la presencia de anemia. Tablas 28 y 29. (Figura.20).

Hepcidina (ng/ml) 6 meses		
Variable	Rho	p
Ferritina (µg/L)	0.43	0,678
Hierro sérico (µg/L)	0,41	0,695
Transferrina (g/L)	-0,026	0,802
Sat. Transferrina %	0.54	0,877
Hematocrito %	0,79	0,630
Hemoglobina (g /dL)	0.90	0,380
VCM (fL)	0.79	0,464
CHCM (g /dL)	0.67	0,204
Hepcidina (ng/ml) 12 meses		
Variable	Rho	p
Ferritina (µg/L)	0.177	0,097
Hierro sérico (µg/L)	-0,48	0,658
Transferrina (g/L)	-0,66	0,544
Sat. Transferrina %	0.54	0,877
Hematocrito %	0,49	0,698
Hemoglobina (g /dL)	0.68	0,598
VCM (fL)	0,67	0,879
CHCM (g /dL)	0.77	0,476

Tabla. 27. Análisis de la influencia de las diferentes variables del metabolismo de hierro en los niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses de vida. Rho= coeficiente de correlación.

Variable	Ferropenia	sanos	P
Hepcidina 6 meses (ng/ml)	45,17 (33,13-50,67)	42,80 (36,65-54,80)	0,88
Hepcidina 12 meses (ng/ml)	43,50 (38,30-60,16)	55,60(42,79-77,45)	0,13

Tabla. 28. Valores de Hepcidina y presencia de ferropenia a los 6 y 12 meses de vida, (mediana (intercuartil 25%-75%).)

Variable	Anemia	Sanos	P
Hepcidina 6 meses (ng/ml)	42,02 (37,28-48,97)	45,35 (36,69-56,7)	0,48
Hepcidina 12 meses (ng/ml)	40,65 (35,88-47,17)	55,17 (42,79-76,20)	0,04

Tabla. 29. Valores de Hepcidina y presencia de anemia a los 6 y 12 meses de vida, (mediana (intercuartil 25%-75%).)

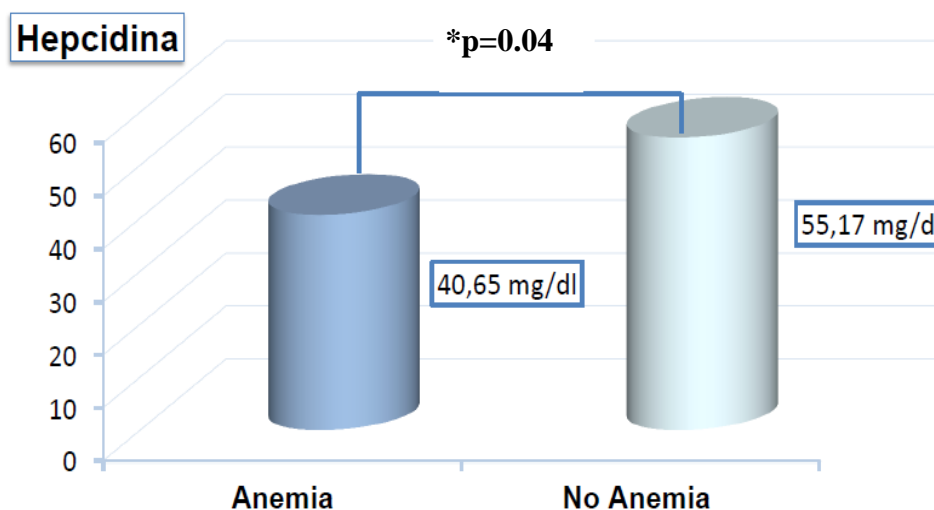


Figura 20. Valores de hepcidina en lactantes anémicos y sanos a los 12 meses.

No se observaron diferencias significativas en los niveles de hepcidina en los lactantes con que sufrieron procesos infecciosos ni a los 6 meses ni a los 12 meses de vida (tabla 30).

Variable	Si Infecciones	No Infecciones	P
Hepcidina 6 m (ng/ml)	41,98 (34,94-54,10)	42,79 (36,70-52,67)	0,95
Hepcidina 12m (ng/ml)	56,68 (42,66-77,35)	53,26 (41,31-73)	0,43

Tabla. 30. Análisis de los niveles de Hepcidina y antecedente de proceso infeccioso, (mediana (intercuartil 25%-75%)).

Respecto a las citocinas, a los 6 meses se observó una correlación positiva entre los niveles de hepcidina y IL-1 β , INF- α y TNF β (tabla.31). Por otra parte, los niveles de hepcidina a los 12 meses se correlacionaban con los niveles de IL-1 β y TNF β (tabla.32).

Hepcidina (ng/ml)		
Variable (pg/ml)	Rho	p
IL-1β	0.28	0,027
IL-2	0.57	0,632
IL-4	0.17	0,163
IL-6	0.34	0,777
IL-8	0.69	0,563
IL-10	0.63	0,599
IL-12	0.09	0,464
INF-y	0.27	0,020
TNF-α	0.12	0,295
TNF-β	0.29	0,012
MCP-1	0.01	0,957

Tabla. 31. Análisis univariante de la influencia de las diferentes citocinas en los niveles de hepcidina a los 6 meses de vida, (mediana (intercuartil 25%-75%)).

Hepcidina (ng/ml)		
Variable (pg/l)	Rho	p
IL-1β	0,41	<0.001
IL-2	0,15	0,221
IL-4	-0,22	0,072
IL-6	-0.15	0,221
IL-8	0,06	0,640
IL-10	-0.15	0.210
IL-12	0,06	0,962
INF-y	0,03	0,821
TNF-α	-0,07	0,555
TNF-β	0,44	<0.001
MCP-1	0,09	0,433

Tabla. 32. Análisis univariante de la influencia de las diferentes citocinas en los niveles de hepcidina a los 12 meses de vida (mediana (intercuartil 25%-75%)).

El análisis multivariante mostró que la lactancia materna ($\beta = -9.87$; $p = 0,005$) se relacionaba de forma negativa e independiente y TNF β ($\beta = 0,55$; $p = 0,03$) y IL1 β ($\beta = 0,06$; $p = 0,02$) de forma positiva e independiente con los niveles de hepcidina a los 6 meses de vida, mientras que a los a los 12 meses de vida, la ferritina $\beta = 0,51$; $P = 0,045$ y el TNF β ($\beta = 1,38$; $p < 0,001$) se relacionaban de forma positiva e independiente y el tipo de formula adaptada de la intervención ($\beta = -13,7$; $p < 0,049$) de forma negativa e independiente con los niveles de hepcidina (tabla.33).

Hepcidina (ngr/ml) 6 meses		
Variable	β	P
Lactancia materna	-9,87	0.005
TNF- β (pg/ml)	0,55	0.03
INF- γ (pg/ml)		0,4
IL-1 β (pg/ml)	0.06	0,02
Hepcidina (ngr/ml) 12 meses		
Variable	β	P
Formula adaptada	13.7	0.049
TNF- β (pg/ml)	1.38	p<0,001
IL-1 β (pg/ml)	0.07	0,55
Anemia (ug/L)	0,51	0,45

Tabla.33. Analisis multivariante de los factores relacionados con los niveles de hepcidina a los 6 y 12 meses.

4.5 Estudio de Inmunoglobulinas.

Respecto al análisis de inmunoglobulinas, en la tabla 34 se muestran las medianas de los valores de IgG, IgM e IgA a los 6 y a los 12 meses de vida. Cabe destacar que ninguno de los lactantes presentó niveles de IgG o IgM, por debajo del límite inferior para la edad, ni a los 6 ni a los 12 meses de vida.

Variable	6 Meses	12 Meses	p
IgG mg/dL	3,43 (2,46-4,74)	5,07 (3,78-6,53)	<0,001
IgM mg/dL	0,45 (0,37-0,63)	0,70 (0,54-0,93)	<0,001
IgA mg/dL	0,32 (0,20-0,41)	0,45 (0,36-0,52)	<0,001

Tabla. 34. Niveles de las diferentes inmunoglobulinas en función de la edad (mediana (intercuartil 25%-75%).)

Analizamos la relación entre los niveles de inmunoglobulinas IgM, IgA e IgG y el tipo de alimentación, observándose una tendencia a que los lactantes alimentados con LM, tuvieran menores niveles de IgM.(tabla.35).

Variable	Lactancia Materna N = 35	Formula Adaptada N = 75	P
IgA (mg/l)	0,29 (0,15-0,37)	0,33 (0,23-0,41)	0,10
IgG (mg/l)	3,12 (2,35-4,58)	3,61 (2,67-4,75)	0,37
IgM (mg/l)	0,41 (0,31-0,57)	0,46 (0,39-0,69)	0,06

Tabla. 35. Valores de Inmunoglobulinas a los 6 meses de vida en función del tipo de lactancia. (Mediana ± desviación estándar).

Por otra parte, los pacientes que tuvieron infecciones presentaron mayores niveles de IgA y de IgM a los 6 y a los 12 meses (tabla. 36).

6 meses			12 meses			
Variable	Sin Infección	Con infección	P	Sin infección	Con Infección	p
IgG (mg/dL)	3,12 (2.49-4.26)	3.75 (2.53-5.05)	0.20	4.93 (3.73-6.39)	5.39 (3.94-6.94)	0.192
IgM (mg/dL)	0,43 (0,32-0,60)	0.55 (0.43-0.76)	0.001	0.68 (0.53-0.86)	0.77 (0.63-0.98)	0.041
IgA (mg/dL)	0,31 (0,18-0,37)	0.35 (0.23-0.48)	0.03	0.42 (0.35-0.49)	0.49 (0.40-0.59)	0.002

Tabla. 36. Valores de Inmunoglobulinas a los 6 meses de vida en función del antecedente de procesos infecciosos. Mediana (intercuantil 25-75%).

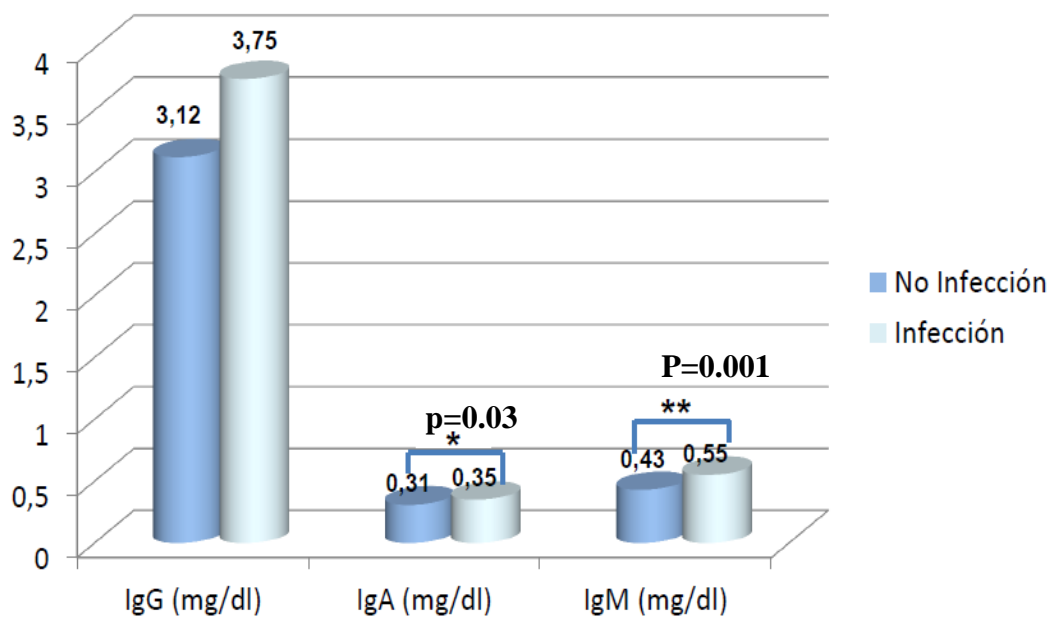


Figura. 21. Niveles de inmunoglobulinas en relación al antecedente de infección a los 6 meses.

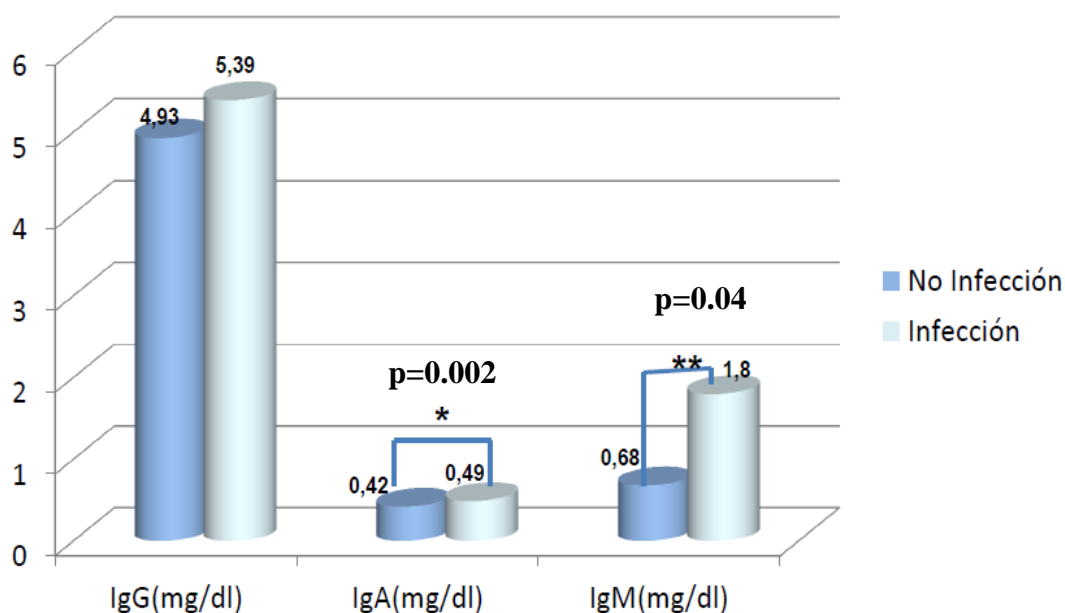


Figura. 22. Niveles de inmunoglobulinas en relación al antecedente de infección a los 12 meses.

4.6 Citocinas.

Niveles normales en nuestra población

En la tabla 37 se presentan los niveles plasmáticos de las diferentes citocinas analizadas a los 6 y a los 12 meses. Entre los 6 y los 12 meses se observó un incremento significativo de TNF- β y una disminución MCP-1, así como una tendencia al incremento de IL-2 y a la disminución de TNF- α .

Citocina (pg/L)	6 meses	12 meses	P
IL-1 β	9.91 (0,004-50.47)	36.15 (0,004-54.41)	0.179
IL-2	0,01(0,01-5.94)	0,01(0,01-40.95)	0.051
IL-4	45.58 (18.84-129.88)	40.07 (13.28-104.43)	0.362
IL-6	0,001 (0,001-2.94)	0,001(0,001-3.34)	0.700
IL-8	10.30 (0,005-20.49)	7.51 (0,005-18.07)	0.432
IL-10	0.57 (0,001-14.95)	0.33 (0,001-12.07)	0.381
IL-12	0,001 (0,001-20.6)	0,001(0,001-3.84)	0.391
IFN- γ	25.87 (0,001-120.77)	46-97 (,001-109.66)	0.462
TNF- α	0,003 (0,003-31.91)	0,003(0,003-13.57)	0.059
TNF-β	0,002(0-6.94)	4.77 (0,002-11.64)	0.002
MCP-1	1242 (976-1478)	948 (794-1300)	0.002

Tabla.37. Variación en los niveles de citocinas inflamatorias entre los 6 y los 12 meses. Los valores se presentan como mediana (intercuartil 25%-75%).

Influencia de la alimentación en los niveles de citocinas

Respecto a la influencia del tipo de alimentación en los niveles de las diferentes citocinas, en los lactantes alimentados exclusivamente con LM a los 6 meses se identificaron menores niveles de IL-2 y una tendencia a tener menores niveles de IL-1 β , (tabla 38).

Citocinas (pg/L)	LA	LM	P
IL-1 β	13.52 (0,004-52.83)	0,004 (0,004-26.35)	0.07
IL-2	0,01(0,01-25.49)	0,01 (0,01-0,01)	0.02
IL-4	45.58 (15.70-159.33)	79.92 (25.36-148.86)	0.67
IL-6	0,001 (0,001-3.54)	0,001 (0,001-2.54)	0.57
IL-8	13.63 (2.81-21.55)	9.82 (0,0005-19.29)	0.20
IL-10	0,001 (0,001-17.02)	4.94 (0,001-21.52)	0.26
IL-12	0,001 (0,001-19.37)	0,001 (0,001-56.20)	0.26
IFN- γ	42.7 (0,0016-124.42)	34.49 (0,0016-238.85)	0.86
TNF- α	0.22 (0,003-31.46)	0,003 (0,003-41.16)	0.99
TNF- β	0,002 (0,002-5.81)	0,002 (0,002-7.37)	0.82

Tabla. 38. Influencia del tipo de alimentación en los niveles de las diferentes citocinas analizadas a los 6 meses. Mediana (intercuartil 25%-75%).

Influencia del metabolismo del hierro en los niveles de citocinas

Analizamos la correlación de los diferentes parámetros implicados en el metabolismo del hierro con los niveles de las citocinas pro inflamatorias a los 6 y 12 meses de edad (las correlaciones con la hepcidina ya se han presentado previamente). A los 6 meses de vida se evidenció una correlación significativa entre hepcidinae IL1- β , INF- γ , y TNF- β , entre Hb y TNF- β y entre ferritina y TNF- β (tabla. 39).

Variable (pg/ml)	Hepcidina		Hemoglobina		Ferritina	
	Rho	P	Rho	P	Rho	P
IL-1β	0.28	0,027	0.15	0.20	0.11	0.350
IL-2	0.57	0,632	0.17	0.14	0.16	0.169
IL-4	0.17	0,163	0.14	0.23	- 0.12	0.313
IL-6	0.34	0,777	-0.02	0.85	-0.04	0.739
IL-8	0.69	0,563	0.09	0.44	0.08	0.471
IL-10	0.63	0,599	0.08	0.78	- 0.10	0.415
IL-12	0.09	0,464	0.18	0.11	0.13	0.275
INF-y	0.27	0,020	0.26	0,02	0.03	0.781
TNF-α	0.12	0,295	0.24	0,04	-0.07	0.562
TNF-β	0.29	0,012	0.10	0.38	0.24	0,030
MCP-1	0.01	0,957	0.06	0.63	0.04	0.761

Tabla. 39. Correlación entre los niveles plasmáticos de citocinas y variables relacionadas con el metabolismo del hierro (hepcidina, hemoglobina, ferritina) y los niveles plasmáticos de las citocinas a los 6 meses.

A los 12 meses se objetivó una correlación significativa entre hepcidina y IL-1 β y TNF- β , una correlación significativa inversa entre Hb e IL6 y entre ferritina y TNF- α e IL-8 (tabla.40).

Variable (pg/l)	Hepcidina		Hb		Ferritina	
	Rho	P	Rho	P	Rho	p
IL-1β	0,41	<0.001	-0.06	0.622	-0.09	0.43
IL-2	0,15	0,222	-0.03	0.821	-0.19	0.12
IL-4	-0,22	0,070	0.06	0.668	-0.19	0.12
IL-6	-0.15	0,222	-0.25	0.035	0.03	0.78
IL-8	0,06	0,640	0.04	0.785	-0.26	0.003
IL-10	-0.15	0.210	-0.04	0.729	0.11	0.38
IL-12	0,06	0,965	0.06	0.644	-0.21	0.08
INF- γ	0,03	0,824	-0.09	0.482	-0.20	0.11
TNF-α	-0,07	0,553	-0.02	0.980	-0.25	0.004
TNF-β	0,44	<0.001	0.16	0.180	-0.10	0.45
MCP-1	0,09	0,433	0.03	0.836	0	1

Tabla. 40. Correlación entre los niveles plasmáticos de citocinas y variables relacionadas con el metabolismo del hierro (hepcidina, hemoglobina, ferritina) y los niveles plasmáticos de las citocinas inflamatorias a los 12 meses.

No se observó influencia de la presencia de anemia y de ferropenia en los niveles de las diferentes citocinas (tablas 41 y 42).

Citocina (pg/L)	Anemia 6			Anemia 12		
	Presente	ausente	p	presente	ausente	p
IL-1 β	0.004 (0.004-21.13)	10.93 (0.004-50.89)	0.19	44.80 (16.38-55.6)	39.54 (1.64-55.12)	0.37
IL-2	0,01 (0.01-0.01)	0.01 (0.01-17.4)	0.15	5.74 (0.01-86.51)	0.01 (0.01-50.51)	0.36
IL-4	38.75 (9.44-84.72)	62.69 (20.26-159.81)	0.16	85.07 (11.38-159)	40.07 (12.11-107.54)	0.06
IL-6	0.001 (0.001 -3.34)	0.001 (0.001-2.94)	0.99	0.001 (0.001-4.15)	0.001 (0.001-3.14)	0.42
IL-8	4.79 (0.0005-20.82)	10.77 (0.0005-20.44)	0.44	13.64 (5.47-23.16)	7.96 (0.0005-18.07)	0.12
IL-10	1.84 (0.001-7.0)	0.001 (0.001-16.41)	0.86	0.001 (0.001-10.56)	0.33 (0.001-12.68)	0.48
IL-12	0.001 (0.001-8.7)	0.001 (0.001-21.25)	0.34	0.001 (0.001-35.83)	0.001 (0.001-9.42)	0.26
INF- γ	8.64 (0.0016-62.84)	45.25 (0.0016-126.26)	0.07	104.66 (0.0016-151-49)	49.79 (0.0016-105.49)	0.06
TNF- α	0.003 (0.003-17.94)	0.003 (0.003-35.14)	0.13	6.10 (0.003-29.58)	0.003 (0.003-13.94)	0.11
TNF- β	0.002 (0.002-0.002)	0.002 (0.002-7.27)	0.29	7.27 (0.002-10.41)	6.66 (0.002-12.82)	0.81
MCP-1	1350 (1124-1410)	1219 (945-1481)	0.87	989 (699-1266)	994 (805-1288)	0.95

Tabla. 41. Comparación de los niveles plasmáticos de las citocinas inflamatorias estudiadas según la presencia de anemia a los 6 y a los 12 meses. Mediana (intercuartil 25%-75%).

Citocina pg/ml	Ferropenia 6			Ferropenia 12		
	presente	ausente	p	presente	ausente	p
IL-1 β	6.23 (0.004-54.83)	9.91 (0.004-50.55)	0.87	44.80 (16.38-55.6)	28.84 (0.004-53.01)	0.40
IL-2	0.01 (0.01-0.01)	0.01 (0.01-12.09)	0.33	5.74 (0.01-86.51)	0.01 (0.01-27.48)	0.36
IL-4	42.92 (18.90-16.06)	47.49 (12.84-124.92)	0.78	85.07 (11.38-159.0)	37.90 (13.64-98.49)	0.82
IL-6	0.96 (0.001-4.17)	0.001 (0.001-2.94)	0.78	0.001 (0.001-4.15)	0.001 (0.001-2.54)	0.79
IL-8	0.0005 (0.0005-14.25)	10.77 (0.0005-20.82)	0.16	13.64 (5.47-23.16)	6.14 (0.0005-17.02)	0.35
IL-10	3.39 (0.001-573.9)	0.51 (0.001-10.04)	0.66	0.001 (0.001-10.56)	2.14 (0.001-14.45)	0.20
IL-12	1.31 (0.001-141.5)	0.001 (0.001-20.01)	0.33	0.001 (0.001-35.83)	0.001 (0-27.48)	0.15
INF- γ	58.56 (0.0016-281.82)	25.87 (0.0016-115.40)	0.16	104.66 (0.0016-151.49)	31.13 (0.0016-92.91)	0.34
TNF- α	0.003 (0.003-153.73)	0.003 (0.003-31.23)	0.98	6.1 (0.003-29.58)	0.003 (0.003-12.39)	0.77
TNF- β	0.002 (0.002-3.53)	0.002 (0.002-7.47)	0.85	7.27 (0.002-10.21)	0.002 (0.002-12.77)	0.32
MCP-1	1294 (692-1938)	1240 (1042-1471)	0.78	989 (699-1266)	957 (784-1311)	0.13

Tabla. 42. Comparación de los niveles plasmáticos de las citocinas pro-inflamatorias estudiadas según la presencia de ferropenia a los 6 y a los 12 meses. Mediana (intercuartil 25%-75%).

Dada la correlación lineal observada entre hepcidina y diversas citocinas inflamatorias, analizamos los niveles de las citocinas en relación con la hepcidina considerándola como variable dicotómica. Para ello determinamos los niveles de las citocinas

para diferentes puntos de corte de los niveles de hepcidina: percentil 25%, mediana y percentil 75%. No se observaron diferencias significativas en el percentil 25% pero sí para el resto de puntos de corte, de tal manera que observamos mayores niveles de IL1-b y TNF b en el grupo de mayor nivel de hepcidina tanto a los 6 como a los 12 meses. También observamos mayores niveles de INF -y en el subgrupo con un valor de hepcidina por encima de la mediana a los 6 meses (tablas 43 y 44). Estos resultados eran coherentes con los hallados en el análisis de correlación lineal.

Citocina pg/ml	6 meses			12 meses		
	<	≥	p	<	≥	P
IL-1β	0,0016 (0,0016-32.48)	21.14 (0,0016-68.71)	0.02	15.33 (0,0016-43.59)	44.52 (7.92-74.49)	0.02
IL-2	0,01 (0,01-16.08)	0,01 (0,01-5.94)	0.96	0,01 (0,01-24.14)	0,01 (0,01-67.52)	0.28
IL-4	32.52 (17.73-94.15)	79.14 (22.42-164.58)	0.17	63.69 (18.19-135.81)	28.56 (9.07-75.61)	0.06
IL-6	0,0016 (0,0016-3.14)	0,0016 (0,0016-2.54)	0.64	0.18 (0,0016-2.94)	0,0016 (0,0016-3.75)	0.21
IL-8	9.36 (0,0005-19.29)	13.87 (4.34-20.75)	0.18	7.05 (0,0005-16.28)	7.96 (0,0005-19.53)	0.52
IL-10	0.63 (0,001-16.41)	0.001 (0,001-8.04)	0.51	2.15 (0,001-15.77)	0,001 (0,001-10.1)	0.07
IL-12	0,0015 (0,0015-0,0015)	0,0015 (0,0015-31.02)	0.13	0,0015 (0,0015-12.23)	0,0015 (0,0015-0,0015)	0.28
INF-y	6.43 (0,0016-73.89)	96.62 (5.74-155.67)	0.02	46.97 (0,0016-155.86)	41.03 (0,0016-104.12)	0.81
TNF-α	0,0032 (0,0032-25.04)	1.13 (0,0032-33.17)	0.25	0,0032 (0,0032-29.3)	0,0032 (0,0032-9.7)	0.47
TNF-β	0,0024 (0,0024-2.14)	0,0024 (0,0024-12.22)	0.05	0,0024 (0,0024-10.41)	8.29 (0,0024-13.93)	0.013
MCP-1	1350 (1047-1585)	1180 (950-1403)	0.11	1102 (747-1551)	949 (810-1263)	0.55

Tabla. 43. Comparación de los niveles plasmáticos de las citocinas pro-inflamatorias estudiadas según los niveles de hepcidina (≥ o < a la mediana) a los 6 y a los 12 meses.

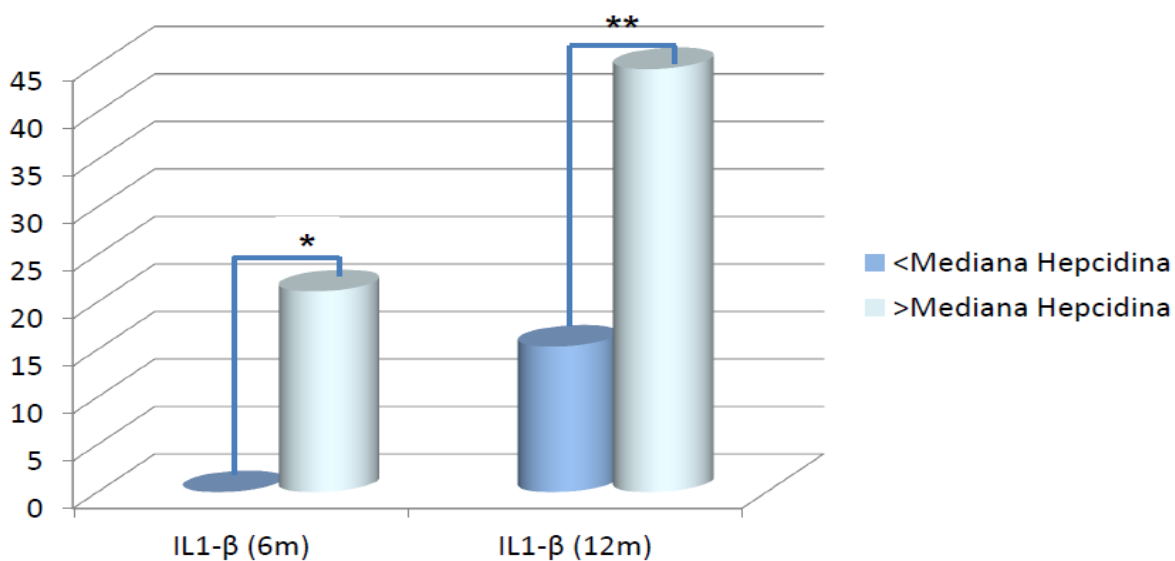


Figura.23. Niveles de IL-1 en lactantes con hepcidina < mediana y hepcidina > mediana a los 6 y 12 meses de vida

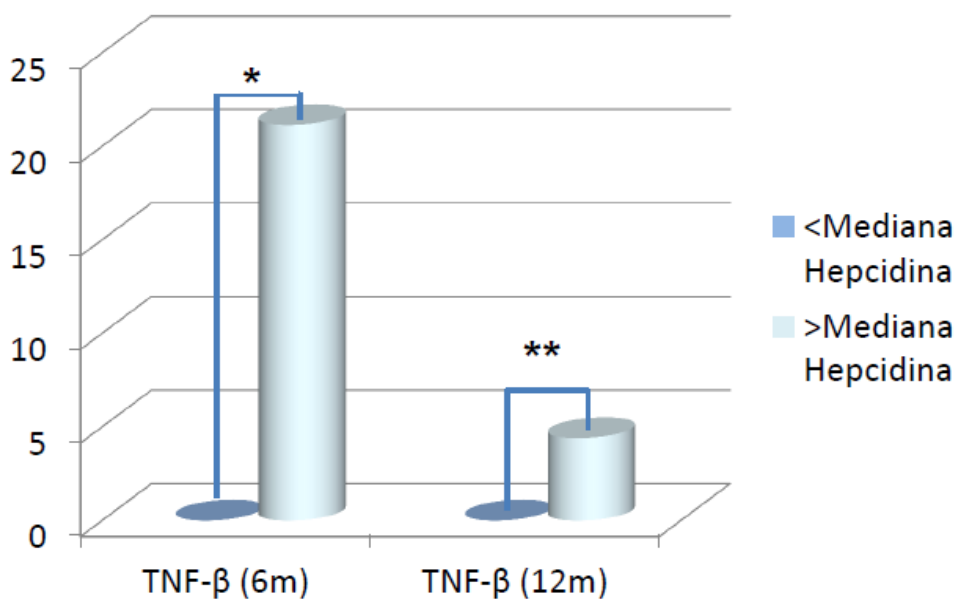


Figura. 24. Niveles de TNF- en lactantes con hepcidina < mediana y hepcidina > mediana a los 6 y 12 meses de vida.*= $p < 0.05$

Citocina pg/ml	6 meses			12 meses		
	<	≥	p	<	≥	p
IL-1b	0,004 (0,004-32.94)	40.76 (0,004-64.47)	0.039	21.03 (0,004-48.10)	48.20 (23.55-89.0)	0.005
IL-2	0,016 (0,016-10.80)	0,016 (0,016-12.72)	0.887	0,016 (0,016-34.49)	0,016 (0,016-70.13)	0.850
IL-4	43.30 (19.55-95.36)	92.64 (10.73-255.5)	0.492	42.01 (15.04-132.4)	29.28 (4.36-54.53)	0.082
IL-6	0,0016 (0,0016-2.54)	0,0016 (0,0016-3.75)	0.433	0,0016 (0,0016-2.74)	0,0016 (0,0016-3.95)	0.473
IL-8	9.82 (0,0005-21.52)	13.16 (1.73-19.51)	0.877	7.05 (0,0005-16.65)	10.54 (0,0005-18.41)	0.881
IL-10	0.57 (0.0019-16.99)	0,0019 (0,0019-7.3)	0.702	0.63 (0,0019-14.04)	0,0019 (0,0019-10.33)	0.531
IL-12	0,0015 (0,0015-21.88)	0,0015 (0,0015-20.01)	0.821	0,0015 (0,0015-0.96)	0,0015 (0,0015-70.13)	0.960
INF-γ	19.61 (0,0016-114.2)	45.25 (11.3-155.7)	0.175	44.84 (0,0016- 28.78)	46.82 (1.59-99.1)	0.973
TNF-α	0,0032 (0,0032-35.75)	0,0032 (0,0032-27.32)	0.900	0,0032 (0,0032-17.34)	0,0032 (0,0032-5.73)	0.16
TNF-β	0,0024 (0,0024-3.21)	0.48 (0,0024-16.35)	0.007	0,0024 (0,0024-9.07)	12.77 (5.22-17.67)	<0.001
MCP-1	1242 (945-1478)	1228 (1077-1437)	0.862	953 (727-1294)	1038 (854-1366)	0.352

Tabla. 44. Comparación de los niveles plasmáticos de las citocinas -inflamatorias estudiadas según los niveles de hepcidina (≥ o < cuartil 75%) a los 6 y a los 12 meses

Influencia del antecedente de infecciones en los niveles de citocinas

Analizamos la relación entre los niveles de las diferentes citocinas pro-inflamatorias y la aparición de procesos infecciosos a los 12 meses, sin observarse diferencias significativas en los niveles de citocinas entre los lactantes que habían sufrido procesos infecciosos versus los que no habían sufrido. Solo IL-1 mostraba una tendencia a tener mayores niveles en los pacientes que habían sufrido un proceso infeccioso (tabla.45).

Citocinas (pg/L)	Con Infección	Sin Infección	P
IL-1 β	43.20 (8.1-61.4)	18.60 (0.004-48.31)	0.08
IL-2	0.01(0.01-41.52)	0.01 (0.01-56.07)	0.42
IL-4	37.90 (11.69-113.34)	40.84 (15.17-102.67)	0.43
IL-6	0.001 (0.001-4.15)	0.001 (0.001-3.34)	0.90
IL-8	13.64 (0.0005-20.53)	6.14 (0.0005-15.93)	0.29
IL-10	2.15 (0.001-13.29)	0.001 (0.001-10.56)	0.44
IL-12	0.001 (0001-3.84)	0.001 (0.001-0.001)	0.86
IFN- γ	42.7 (0,0016-106.31)	52.60 (0,0016-121.34)	0.84
TNF- α	0.003 (0.003-20.12)	0.003 (0.003-11.90)	0.76
TNF- β	7.06 (0.002-14.28)	0,002 (0,002-7.37)	0.22

Tabla. 45. Influencia del antecedente de infección en los niveles de las diferentes citocinas analizadas a los 12 meses. Mediana (intercuartil 25%-75%).

4.7 Resultados del ensayo clínico: administración de leche adaptada con bajo vs alto contenido de hierro entre los 6 y 12 meses de vida

Influencia del contenido en hierro de la leche adaptada en el desarrollo antropométrico

En cuanto a los parámetros antropométricos, el tipo de fórmula adaptada con bajo o alto contenido de hierro no influyó en el incremento de la talla, peso ni PC entre los 6 y los 12 meses (tabla.46).

Variable	Leche alta Fe (n=69)	Leche baja Fe (n=29)	P
Δ PCa (cm)	2,76 \pm 0,81	2,75 \pm 0,59	0,96
Δ Pa (gr)	2080 \pm 520	2014 \pm 767	0,63
Δ Ta (cm)	8,39 \pm 2,10	8,26 \pm 1,15	0,77
Δ Tr (cm)	0,12 \pm 0,03	0,12 \pm 0,23	0,98
Δ Pr (gr)	0,25 \pm 0,57	0,26 \pm 0,095	0,61
Δ PCr (cm)	0,06 \pm 0,01	0,63 \pm 0,13	0,91

Tabla. 46. Análisis univariante de la influencia de las diferente fortificaciones en el incremento de los datos antropométricos a los 12 meses
a: incremento absoluto total en cm o gr. r: incremento relativo, en %, cm o gr
 Δ PC: Incremento perímetro cefálico, Δ P: incremento de peso, Δ T: incremento de talla.

Influencia del contenido en hierro de la leche adaptada en los parámetros relacionados con el metabolismo del hierro

Al comparar los parámetros bioquímicos vinculados al metabolismo del hierro en ambos grupos de la intervención, se observó una mayor prevalencia de ferropenia a los 12 meses en el grupo de lactantes que recibió LA con bajo contenido en hierro a partir de los 6 meses, frente a los lactantes que recibieron LA con un alto contenido en hierro, sin observarse diferencias en la prevalencia de anemia (tabla. 47).

Variable	Fórmula adaptada bajo Fe (n=24)	Fórmula adaptada dosis alta Fe (n=95)	p
Ferropenia	8 (33,3%)	12(12,6%)	0,005
Anemia	3 (18,7%)	4 (4,8%)	0,120
Ferritina (ugr/L)	42.86±30.22	32.73±22.60	0.154
Saturación transferrina (%)	19.93±9.46	16.34±7.35	0.181
Hemoglobina (g/dL)	3 (18,7%)	4 (4,8%)	0,122
ADE %	14.09±2.06	14.6±1.38	0.971
VCM fL	77.81±4.77	77.57±4.05	0.600

Tabla. 47. Variable relacionadas con el metabolismo del hierro a los 12 meses de vida, en función del tipo de fórmula recibida, enriquecimiento alto: 1,16 mg de hierro/100ml; y bajo: Fe 0,44 mg de hierro/100ml. n (%). Media ±DS. PC: perímetro craneal. ADE: amplitud de dispersión eritrocitaria.

Influencia del contenido en hierro de la leche adaptada en los niveles de citocinas inflamatorias

En cuanto a los procesos infecciosos, no se observó relación entre la variable infección y el tipo de fórmula adaptada con bajo contenido en hierro o alto (tabla.48).

Variable	Leche alto Fe (n=69)	Leche baja Fe (n=29)	P
Infección	34 (49%)	14 (48%)	0,93

Tabla.48. Relación entre procesos infecciosos y el tipo de fórmula adaptada, enriquecimiento alto: 1,16 mg de hierro/100ml; y bajo: Fe 0,44 mg de hierro/100ml.n (%).

Al comparar los niveles de hepcidina dependiendo de la cantidad de hierro de la fórmula, observamos menores niveles de hepcidina en el grupo con leche enriquecida con mayor cantidad de hierro. Tabla.49, (fig.25.).

Variable	Leche alto Fe (n=69)	Leche baja Fe (n=29)	P
Hepcidina 12 meses	56,20 (42,8-78,2)	44,90 (39,0-53,70)	0,046

Tabla. 49. Niveles de Hepcidina en función al tipo de fórmula adaptada, enriquecimiento alto: 1,16 mg de hierro/100ml; y bajo: Fe 0,44 mg de hierro/100ml. Mediana (intercuartil 25%-75%).

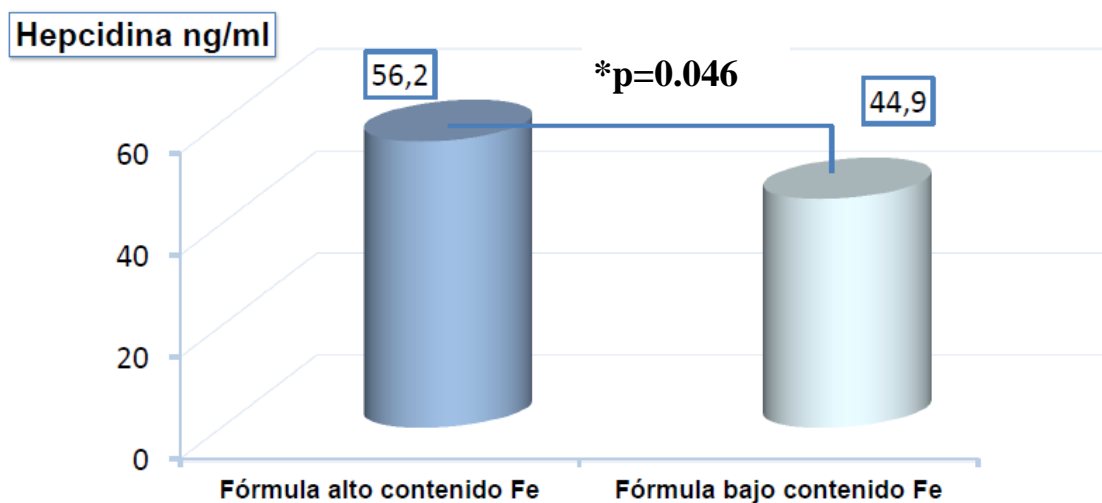


Figura.25. Niveles hepcidina en relación a la fortificación dietética con bajo o alto aporte a los 12 meses de vida.

En relación a la expresión de las citocinas estudiadas, a los 12 meses no encontramos diferencias significativas en los niveles de ninguna de ellas entre los dos grupos de intervención (tabla.50).

Citocinas (pg/L)	Leche baja Fe (n=17)	Leche alta Fe (n=53)	P
IL-1 β	11.74 (0.02-50.94)	40.56 (0.13-53.54)	0.75
IL-2	0.01 (0.01-0.01)	0.01 (0.001-51.92)	0.15
IL-4	43.32 (14.07-93.28)	35.52 (12.54-110.56)	0.72
IL-6	0,001 (0.001-1.74)	0,001 (0.001-3.75)	0.65
IL-8	13.61 (0.0005-20.48)	5.24 (0.0005-16.11)	0.32
IL-10	0,001 (0.001-8.99)	0.33 (0.001-10.56)	0.56
IL-12	0,001 (0.001-0.001)	0,001 (0,001-1.92)	0.36
IFN- γ	42.7 (0-02-106.3)	31.13 (0.02-104.12)	0.42
TNF- α	0.03 (0,03-10.81)	0.003 (0.003-13.13)	0.89
TNF- β	7.06 (0.02-11.19)	3.95 (0.02-12.77)	0.75

Tabla. 50. Relación entre expresión de citocinas y el tipo de fórmula adaptada, enriquecimiento alto: 1,16 mg de hierro/100ml; y bajo: Fe 0,44 mg de hierro/100ml. Los valores se presentan como mediana (intercuantil 25-75%).

5. DISCUSIÓN

5. Discusión

5.1. *Contribuciones principales del presente trabajo.*

El déficit de hierro es la alteración del metabolismo del hierro con mayor prevalencia a nivel mundial (Kassebaum et al., 2013). De tal manera que se considera un problema de salud pública (“Conclusions and recommendations of the WHO Consultation on prevention and control of iron deficiency in infants and young children in malaria-endemic areas.” 2007), (WHO. 2002). Los lactantes son una población de riesgo para el desarrollo de ferropenia. Esto se debe fundamentalmente al rápido crecimiento en esta etapa de la vida (Scrimshaw, 2000), (Desforges & Oski, 1993), (Lopez, Cacoub, Macdougall, & Peyrin-Biroulet, 2015). En los últimos años ha habido importantes avances en el conocimiento de la regulación del metabolismo del hierro, fundamentalmente con la descripción de la hepcidina, proteína que vincula el metabolismo del hierro con el sistema inmunitario y que ha resultado ser clave en la etiopatogenia de la anemia inflamatoria crónica.

En la actualidad, los datos existentes sobre la implicación de la hepcidina en la anemia del lactante son limitados y la mayoría de estudios al respecto, han sido realizados en poblaciones de países en desarrollo con una alta prevalencia de anemia, poblaciones con patología aguda grave, y o con enfermedades crónicas asociadas (Cakir et al., 2015), (Baumgartner & Barth-Jaeggi, 2015), (Mupfudze et al., 2015), (Cherian et al., 2008), (Cakir et al., 2015), (Uijterschout et al., 2014), (Kossiva, Soldatou, Gourgiotis, Stamati, & Tsentidis, 2013).

Este trabajo, es el primer estudio longitudinal realizado en población europea en lactantes sanos que describe la relación entre los parámetros bioquímicos del hierro, incluyendo la hepcidina, con los niveles séricos de citocinas inflamatorias a lo largo de los primeros 12 meses de vida. El seguimiento de las citocinas inflamatorias y el registro de procesos infecciosos han permitido buscar su relación sobre los niveles séricos de hepcidina, los parámetros bioquímicos del hierro y la hemoglobina a lo largo del primer año de vida en relación con la inflamación.

Así mismo, el presente trabajo describe por primera vez la relación entre el tipo de alimentación y los niveles de hepcidina sérica y aporta por primera vez evidencia científica de un menor nivel de hepcidina en lactantes alimentados con LM.

El presente estudio evidencia el efecto favorable de la LM en el desarrollo del lactante y el efecto beneficioso de la suplementación de la LA, con aportes de hierro en rango alto frente al bajo, sobre la prevalencia de ferropenia en lactantes en países desarrollados.

5.2. Características de la Población de estudio. Nuestra población de estudio son recién nacidos sanos a término, con una media de edad gestacional de 39 semanas (DE=1,2), peso medio al nacimiento de 3.232 gr. (DE =548), talla de 49,6 cm \pm 2,3, y PC de 34,3cm \pm 1,6. El 43% fueron varones.

Se trata de una muestra representativa de la población general de lactantes en cuanto a peso, talla y PC. El z score describe unas características antropométricas muy próximas a las medias poblacionales tomando como referencia los datos de la OMS (tablas 12,13 y 14).

El nivel socioeconómico fue en su mayoría 71%, medio, un 23%, nivel elevado y en un 6% bajo. Según los datos del estudio general de medios (EGM) sobre la clasificación de la clase socioeconómica, en 2008 el nivel medio incluyó al 83,2% de la población, alto el 9,3% y un 7,4% bajo, respecto a los datos de 2013, el nivel medio fue del 84,5%, alto del 10,6 % y el 4,9% bajo, datos comparables a los de nuestra muestra.

En cuanto a la alimentación, un 23% (n=35), recibió LM exclusiva hasta los 6 meses, y el 48% (n=75) LA. En España, según la Encuesta Nacional de Salud llevada a cabo en 2006, la lactancia exclusiva a las 6 semanas es del 68%, a los 3 meses del 52% y a los 6 meses del 24,7%. Nuestras cifras de LM a los 6 meses son equiparables a las descritas en esta encuesta. (Ministerio de Sanidad y Consumo e Instituto Nacional de Estadística, INE. Tipos de lactancia según sexo y clase social del sustentador principal. Encuesta Nacional de Salud 2006. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo e INE, 2008).

Estos datos, hacen de nuestra población, una muestra válida para determinar la prevalencia de ferropenia y anemia, así como los valores de hepcidina y citocinas, en lactantes en un área industrializada sin patología asociada y su relación con eventos infecciosos respiratorios.

5.3. Resultados

-Patología infecciosa, inflamatoria.

En nuestro estudio el 50% (n=62) de los lactantes, presento eventos infecciosos: un 32% (n=39) bronquitis, el 11% (n=13) bronquiolitis, 11% (n=13) GEA y un 7% (n=8) presentó episodios de OMA, y el 5% (n=6) ITU. La mayoría de estos pacientes (93%) realizó seguimiento ambulatorio, mientras que el 7% (n=8) requirieron hospitalización, siendo los motivos de ingreso, bronquiolitis grave en cuatro lactantes, bronconeumonía grave en tres y GEA en uno.

Revisando la literatura son escasos los estudios en nuestro medio que registran la incidencia de infecciones respiratorias agudas en lactantes, y los que encontramos hacen referencia a la necesidad de hospitalización y por tanto a infecciones respiratorias graves. Además, gran parte de estas publicaciones, se centran fundamentalmente en pacientes con bronquiolitis.

Si, encontramos estudios prospectivos con grandes cohortes que reportan la incidencia de infecciones respiratorias en población general asiática, Anders KI y cols. reportan un 54,2 por 100 niños/ año (Anders KI, 2015). En nuestro medio, Pérez Tarazona y cols., reportan una incidencia de bronquitis a los 6 meses de 25,2%, dato equiparable al observado en nuestro trabajo. Respecto a la tasa de hospitalización por bronquiolitis aguda, oscila según las series entre un 1- 3,5%, tanto a nivel nacional, como en Europa, Estados Unidos y Canadá. (Díez Domingo, Ridao López, Ubeda Sansano, & Ballester Sanz, 2006), (Quigley & McGuire, 2014), (Willson, Horn, Hendley, Smout, & Gassaway, 2001). Este dato, coincide con el observado en nuestra muestra, con un 3,5% (n =4) de lactantes hospitalizados.

En cuanto, a la incidencia de OMA, Aniansson G, en un estudio prospectivo realizado en Suiza, con 400 lactantes, y con control clínico a los 2, 6, y 10 meses, reportan que el 21% (n =111) de los lactantes presentó algún episodio de OMA al año de vida. Además, se demuestra una incidencia menor de OMA, en los lactantes que reciben LM frente a los que no siguieron LM. (Aniansson et al., 1994). En nuestra población, la incidencia de OMA es menor, (8%), probablemente porque solo se registraron aquellas OMA con diagnóstico clínico médico que asociaban fiebre, a fin de minimizar sesgos de definición.

No encontramos datos de referencia de la incidencia de GEA en lactantes, que nos permitan compararlos con nuestra población, los estudios publicados se centran fundamentalmente en la incidencia de infecciones por rotavirus y pacientes con grave deshidratación que requieren hospitalización. En cuanto a la prevalencia global de ITU en lactantes (<2a) con fiebre (>38°C) en el meta- análisis de Shaikh et al. a partir de datos de 24 estudios (n=20.566), obtiene un valor del 7%.y en el rango de edad de 0 a 12 meses 5,4% cifra similar a la del presente estudio (Shaikh, Morone, Bost, & Farrell, 2008).

Analizamos diversos factores que se han relacionado en la literatura con el riesgo de desarrollo de infecciones en la infancia. Al ser un estudio longitudinal prospectivo la calidad de los datos permite establecer correlaciones de alta calidad metodológica. En nuestro estudio la LM emerge como factor protector independiente de infecciones, mientras que la asistencia a guardería (4% a los 6 meses y 19% a los 12 meses en nuestra población), se correlaciona con una mayor proporción de procesos infecciosos respiratorios y por tanto, se demuestra como un factor de riesgo. Ambos resultados, han sido clásicamente descritos. Es comunmente aceptado, que la LM protege de las infecciones. Sin embargo, a pesar de que el cuerpo bibliográfico sobre el que se sustenta esta creencia parecería ser amplio, no son tantos los trabajos originales al respecto; y la mayoría demuestran una disminución del riesgo de hospitalizaciones por infecciones (Rubin et al., 1990), (Pisacane et al., 1994),(Ball & Wright, 1999), (Rao, Hediger, Levine, Naficy, & Vik, 2002), (Oddy et al., 2003), (Paricio Talayero et al., 2006).

El papel protector de la LM frente a la hospitalización por infección respiratoria, fue refrendado por el metanálisis de Virginia Bachrach en 2003 a partir de siete trabajos realizados en países industrializados (Bachrach, Schwarz, & Bachrach, 2003).

A diferencia de lo descrito en estudios previos, la variable hermanos no se reporta en nuestro trabajo, como factor de riesgo para eventos infecciosos; Es posible que las características de nuestra muestra, con un 77% de primíparas y un 95% de lactantes con un solo hermano, puedan influir en este resultado.

En cuanto al papel protector de la LM, recientemente, María Quigley y cols. sobre una cohorte de RN de Reino Unido, realizado entre 2000 y 2002, demuestra que cada mes de LM exclusiva previno un 53% de hospitalizaciones por gastroenteritis y un 27% de las hospitalizaciones por infección respiratoria inferior. La fortaleza de este estudio estriba en su representatividad y en el número de participantes en la cohorte. Su principal limitación estriba en que las variables están recogidas por entrevista a los padres, con un primer contacto a los 9 meses de vida, lo que puede dar lugar a importantes sesgos de memoria (Quigley & McGuire, 2014).

En nuestro medio, España, Paricio y cols, en 2004, en un estudio con una amplia cohorte, que incluyó a más de 1.000 niños valencianos, encuentra que el riesgo de hospitalización por procesos infecciosos en el primer año de vida, es 5 veces mayor entre los lactantes no amamantados y 2,5 veces mayor entre los que fueron amamantados menos de 4 meses, frente a los amamantados durante 4 o más meses. Además, por cada mes de no lactancia el riesgo de hospitalización se multiplica por 1,5 (Paricio Talayero et al., 2006). Nuestros resultados evidencia un riesgo 3,7 veces mayor de padecer procesos infecciosos en los lactantes que no reciben LM.

En el presente trabajo, hemos intentado minimizar los sesgos de memoria y para ello se llevó a cabo un seguimiento continuo de los lactantes, con registro de infecciones mediante un diario clínico y entrevista personal para recogida de los datos e historia clínica, con un intervalo máximo entre visitas de tres meses. Además se registraron las consultas realizadas en el servicio de Urgencias del hospital de referencia y el registro de hospitalizaciones.

En concordancia y para disminuir los errores de definición, se definieron claramente, tanto la variable LM, como la variable resultado infección. Así, en el análisis de los lactantes con LM se incluyeron únicamente, los lactantes que habían recibido 6 meses de LM exclusiva. En cuanto, a la variable infección, los eventos eran registrados por los dos médicos que realizaron el seguimiento de los lactantes, con criterios bien definidos y estandarizados. En este sentido, cabe destacar que el diseño prospectivo del estudio y la vigilancia activa de los lactantes, permitió una valoración más homogénea y una menor variabilidad en los diagnósticos. Además, para minimizar los sesgos de definición, solo se incluyeron los procesos infecciosos asociados a fiebre, por la posibilidad de que fueran mal interpretados por los padres, fundamentalmente los CVA y las GEA en los primeros meses de vida (estos procesos pueden ser percibidos de diferente manera por las madres que lactan o por las que no). También se tuvieron en cuenta para el análisis estadístico, posibles variables de confusión, como el factor socio-económico, la asistencia a guardería y la paridad. Llevándose a cabo un estudio estadístico multivariante de estas variables.

-Influencia de la alimentación en el desarrollo físico

En nuestro trabajo, no se demostraron diferencias significativas en el desarrollo físico entre los lactantes alimentados con LM exclusiva y los alimentados con LA, ni a los 6 ni a los 12 meses de vida.

Es un hecho que el crecimiento de los lactantes alimentados exclusivamente con LM ha despertado siempre un gran interés entre los pediatras, investigadores y nutricionistas. La evidencia científica, demuestra que la leche humana es el mejor alimento para el lactante por lo que lógicamente la valoración del crecimiento fisiológico debería ser mejor en los niños alimentados con LM. Dewey y cols. en el estudio DARLING compararon datos relativos al crecimiento en niños alimentados exclusivamente con LM o LA y observaron que el crecimiento longitudinal y el perímetro cefálico no presentaba diferencias significativas entre los dos grupos, pero sin embargo, el aumento de peso en los lactantes alimentados con lactancia materna fue menor (Dewey, 2001). Otros estudios realizados en otros países confirman este resultado, como es el caso

estudio PROBIT (Bielorrusia), y el estudio de Escribano et al. cuya población es de la misma edad y área geográfica de nuestro estudio (Escribano et al., 2012). Estos datos son refrendados por el estudio multicentrico de la OMS. En 2006, la OMS llevo a cabo un estudio multicéntrico, que combinó un seguimiento longitudinal desde el nacimiento hasta los 24 meses y un estudio transversal en niños entre 18 y 71 meses de edad. Se recogieron datos de crecimiento de 8.440 niños de distintos orígenes (Brasil, Estados Unidos de América, Ghana, India, Noruega y Omán. Este estudio, documenta que el crecimiento de los lactantes sanos que reciben LM difiere significativamente, con un menor crecimiento de los alimentados artificialmente, deduciéndose una discrepancia entre los beneficios evidentes de la leche materna y el aparente retraso de crecimiento. El nuevo patrón de crecimiento infantil de la OMS fue difundido en Abril de 2006, y establece a la LM como la “norma” biológica y al lactante alimentado al pecho como patrón de referencia para determinar el crecimiento saludable (de Onis, Garza, Onyango, & Rolland-Cachera, 2009). En nuestra muestra, sin embargo, no se evidencian diferencias significativas, en cuanto al patrón de crecimiento de los lactantes y el tipo de alimentación (LM vs LA). Tabla 18.

-Parámetros hematológicos y bioquímicos del Hierro. Anemia y Ferropenia.

En cuanto, a la presencia de anemia y ferropenia a los 6 meses de vida, el 17% (n=19) de los lactantes de nuestra muestra presentaron anemia y un 7 % (n=8) ferropenia. A los 12 meses hay un descenso significativo de los pacientes con anemia hasta un 3,5% (n=4) y un incremento de ferropenia hasta un 20% (n=21) con valores similares de anemia ferropénica. Respecto a la cifra de anemia ferropénica en nuestro trabajo, el 2 % de los lactantes están afectos de anemia ferropénica a los 6 meses de vida, y a los 12 meses un 1 %, por lo que la prevalencia se mantiene estable. Estos resultados son comparables a los descritos en el NHANES III (Dallman, Yip, & Johnson, 1984), (Parikh, Natarajan, Lipsitz, & Katz, 2011) con una prevalencia de AF del 3%.

Según la clasificación de la OMS (WHO, 2011), la prevalencia de anemia ferropénica en nuestra muestra, 2% y 1% a los 6 y 12 meses respectivamente, se considera normal. La prevalencia de ferropenia hallada en nuestro trabajo, según la OMS su

importancia en la salud pública, es leve a los 6 meses (7%), mientras que a los 12 meses (20%) se considera moderada. Por tanto, la anemia ferropénica en la población estudiada, Reus (Tarragona), no es frecuente.

Hemos observado que la prevalencia de ferropenia en lactantes tiende a aumentar con la edad, lo que coincide con los resultados de otros estudios, realizados en países desarrollados (Sherriff, Emond, Bell, & Golding, 2001), (Moráis López & Dalmau Serra, 2011). Este hallazgo parece lógico conociendo la disponibilidad y las necesidades de hierro que caracterizan el primer año de vida.

En general, se acepta que los niños nacidos a término son capaces de mantener un adecuado estado del hierro hasta los seis meses de edad, contribuyendo a ello la elevada biodisponibilidad del hierro contenido en la leche materna.(Ziegler, Fomon, Nelson, Jeter, & Theuer, 2011). Después de los seis meses es necesario un aporte adicional de hierro para prevenir la ferropenia. La deficiencia de hierro no es infrecuente en los lactantes a partir de los seis meses de edad, en todo el mundo. Sin embargo, sobre la prevalencia de anemia ferropénica influye notablemente el grado de desarrollo del país (Woldie, Kebede, & Tariku, 2015). Son numerosos los estudios epidemiológicos que aportan datos de prevalencia de anemia y ferropenia. Las cifras son variables en función del área geográfica y rango etario que se considera.

Nuestros resultados están acorde con lo reportado en la literatura tanto para anemia ferropénica como para ferropenia en países desarrollados.

Los factores que influyen en la prevalencia de anemia y de ferropenia son múltiples. La variabilidad en la prevalencia de anemia es grande entre distintos países, siendo el grado de desarrollo del país uno de los factores fundamentales que la determinan. En los países en desarrollo, por las circunstancias desfavorables que influyen, la prevalencia de anemia observada es mayor que la de los países desarrollados (Galan, Davila, Mekki, & Hercberg, 1988), (V Arijá et al., 1990), (Petersen et al., 1996), (Arijá Val, Fernández Ballart, & Salas Salvadó, 1997), (Zlotkin et al., 2013).

Se observan diferencias entre distintos grupos sociales, incluso dentro de un mismo país (Bogen, Duggan, Dover, & Wilson, 2000). Los hábitos alimentarios son otro factor importante, así como el nivel socioeconómico y educativo (Sherriff et al., 1999). Además, según las áreas puede adquirir importancia algunos factores específicos. Por ejemplo, en el trópico, entre las causas de anemia se encuentra la presencia de parásitos intestinales, sobre todo en las zonas de bajo nivel socioeconómico.

Los datos epidemiológicos demuestran que la prevalencia de ferropenia y de anemia ferropénica, es mayor, con cifras en rango 40-60% en países en desarrollo que en los industrializados. En la revisión sistemática de Eussen y cols de estudios de prevalencia en población europea con un total de 44 estudios en lactantes de 6 a 36 meses se detecta una prevalencia de ferropenia alta en el Este de Europa 50% mientras que Europa occidental es del 5% (Eussen, Alles, Uijterschout, Brus, & van der Horst-Graat, 2015). La prevalencia de anemia ferropénica en los lactantes, oscila entre el 2 y el 4,3% (Lopez et al., 2015). El eurogrowth Iron Study reportó una prevalencia de 9,4 % ferropenia y un 2,3% de AF (Hercberg, Preziosi, & Galan, 2001). Mientras que Verga et al. en Suiza encuentran una prevalencia de ferropenia de 5,7% a los 12 meses (Verga, Widmeier-Pasche, Beck-Popovic, Pauchard, & Gehri, 2014). En nuestro país, existen datos muy puntuales sobre la prevalencia de anemia en grupos de edad y poblaciones específicas, así López A, 2015 reporta un 5,8% ferropenia de los 6 a los 12 meses. En nuestra misma área geográfica de estudio, la población de Reus, Salas y cols. en 1990, observaron una prevalencia de 12,1% de anemia en niños de 6 a 23 meses (V Arija, Salas, Fernández-Ballart, & Marti-Henneberg, 1990).

Cabe destacar en base a estos datos, que la proporción de ferropenia, a los 12 meses en nuestra muestra, del 20%, es más elevada a lo referenciado en la literatura científica en población europea mediterránea; mientras que los valores de AF, 1%, son equiparables. Este hecho, podría justificarse por la intervención realizada a los 6 meses, en la que un subgrupo de niños $n=29$ (20%) recibió LA con fórmula enriquecida en el límite bajo de fortificación, según recomendaciones de las sociedades científicas (0,44/100 ml).

Al realizar el análisis de este subgrupo encontramos diferencias significativas respecto a la prevalencia de ferropenia frente en los dos grupos. Los alimentados con la LA altamente enriquecida presentaron una prevalencia de ferropenia del 12,6% y los lactantes que recibieron formula con menor aporte de hierro del 33,3%.

La prevalencia de anemia ferropénica ha disminuido drásticamente tras la implantación de medidas preventivas hasta alcanzar cifras bajas. Sin embargo, la deficiencia de hierro tras las medidas preventivas mantiene una prevalencia estable, siendo frecuente en lactantes hasta los 12 meses de vida y persiste como un problema de salud pública (Palti, 2000), (Moin & Lassi).

En lactantes, se recomienda adoptar medidas dirigidas a combatir la anemia y a mejorar la ingesta de hierro, sobre todo en áreas geográficas en desarrollo, donde la prevalencia de anemia y ferropenia es elevada. Una de las intervenciones más importantes en este sentido, es la suplementación dietética con hierro. Numerosos estudios han demostrado que la administración de suplementos de hierro disminuye la prevalencia de ferropenia en niños preescolares (Angeles, Gross, Schultink, & Sastroamidjojo, 1995), (Palupi, Schultink, Achadi, & Gross, 1997), (Thu et al., 1999), (Schultink, 1995; Palupi, 1997; Thu, 1999). Otro grupo de población con elevada prevalencia de ferropenia que se beneficia con esta suplementación es el de las mujeres embarazadas (Sloan, Jordan, & Winikoff, 2002), (VictoriaArijaetal., 2014).

Existe en cambio controversia sobre su beneficio en la prevención de anemia y sobre los posibles retrasos en el desarrollo mental y motor (Schroth, Levi, Kliwer, Friel, & Moffatt, 2013). njo, Santos, Costa Arcanjo, Meira Magalhães, & Madeiro Leite, 2013). Hay estudios que demuestran un aumento de la concentración hemoglobina y ferritina tras la administración de hierro (Suominen, Punnonen, Rajamäki, & Irjala, 1998). Así, en áreas endémicas de malaria, parece que el efecto de la suplementación con hierro sí que es evidente, un estudio realizado en Ifakara ha demostrado que la profilaxis con sulfato ferroso reduce el porcentaje de anemias graves (Menéndez et al., 1997).

Por el contrario, en algunos estudios el efecto de la suplementación con hierro puede pasar desapercibido en niños sanos. Así, en un ensayo clínico en niños australianos sanos de 6 meses no se encontraron diferencias en los valores de hierro, transferrina, ferritina y hemoglobina entre los niños que siguieron una dieta normal y los niños que siguieron una dieta enriquecida con hierro (Makrides, Leeson, Gibson RAp6, & Simmer, 1998).

En el presente estudio se confirma el efecto beneficioso de la suplementación dietética con hierro. De tal manera, que en los niños del grupo de intervención, con suplementación dietética con un mayor aporte de hierro, disminuyó de manera significativa la prevalencia de ferropenia en los lactantes expuestos, sugiriendo un efecto preventivo de la deficiencia de hierro.

Nuestros resultados, evidencian por tanto el efecto beneficioso de la suplementación con hierro en un rango alto de enriquecimiento de la fórmula adaptada, en la prevención de ferropenia a los 12 meses. Por otro lado, no encontramos datos clínicamente relevantes, no se observan diferencias respecto a las cifras de anemia ni diferencias significativas en cuanto a procesos infecciosos ni desarrollo físico del lactante (tablas 46, 47 y 48).

Nuestros resultados quedan refrendados por el estudio más destacado que ha valorado el efecto de distintas dosis de hierro en la fórmula adaptada y los parámetros bioquímicos del hierro, el de Walter y cols. llevado a cabo en Chile y que compara la dosis de 0,23/100ml frente a 1,27/100ml, (de Andraca, Castillo, & Walter, 1997) en este trabajo no se observaron al igual que en nuestro estudio diferencias significativas respecto a los valores de anemia ferropénica en los dos grupos de intervención ni a los 6 ni a los 12 meses de vida, y sí que hubo diferencias en los datos de ferropenia (17% vs 35%) con mayor prevalencia en el grupo que recibió fortificación con baja cantidad de Fe. Los autores Morley 1999 y Lozoff 2012, confirman estos resultados, ambos encuentran cambios significativos en la concentración de ferritina y prevalencia de ferropenia, pero no en la prevalencia de AF, ni en el crecimiento, ni desarrollo de los lactantes (Morley et al., 1999), (Lozoff, Castillo, Clark, & Smith, 2012).

En el trabajo de Iozzof con una amplia muestra (n=835) y randomización doble ciego en dos grupos, uno que recibe Fe 12,7mg/L (n=430) y el otro 2,3 mg/L (n=405). La prevalencia de ferropenia disminuye de 35% a 19% ($p < 0.001$), mientras que la cifra de AF permanece estable 3,8 % vs 2,8% ($p = 0,35$) en un rango bajo.

Así, el USPSTF en sus recomendaciones afirma que hay evidencia de que la suplementación con hierro reduce la incidencia de deficiencia de hierro pero encuentra escasa evidencia en resultados clínicos. Sin embargo, un reciente metanálisis de Gera T., avala el enriquecimiento con hierro de las fórmulas adaptadas como medida preventiva de anemia ferropénica (Sachdev & Gera, 2013), (Siu, 2015).

Respecto a cuál sería el aporte óptimo de hierro en la fórmulas adaptadas, existe controversia decual sería el necesario para cubrir el aporte del lactante. Los requerimientos de hierro varían en gran medida según la edad del lactante. Hay autores que recomiendan una cantidad mínima de hierro en base a la baja concentración de hierro en la LM, y otros que abogan por una cantidad mayor, tomando como referencia los requerimientos de hierro de esta etapa (Calder et al, 2006), (Baker, 2010), (Domrlllof, 2014).

Los resultados descritos en el presente estudio y la literatura sugieren que la fortificación dietética con un aporte bajo de hierro sería suficiente para prevenir la anemia ferropénica, y no sería necesaria la adición de hierro en fórmulas infantiles destinadas a lactantes sanos a término antes de los 6 meses (Tuthill et al., 2002). Sin embargo, la fortificación dietética a dosis altas tiene un papel en la prevención de ferropenia, aunque no se ha demostrado una relevancia clínica en países desarrollados; y como se demuestra en este estudio daría lugar a un aumento de la hepcidina sérica y por tanto a una regulación negativa del hierro.

En el presente estudio, respecto al estudio de los datos de anemia, se objetivó una relación significativa entre los valores de la concentración de Hb a los 6 meses y la alimentación con LM.

En este sentido, a los 6 meses de vida destaca una alta prevalencia de anemia 37,5% vs 8,1% en los lactantes alimentados con LM, frente a los alimentados con fórmula adaptada (LA), con una media de Hb de $11,3\text{g/L} \pm 0,81$ vs $11,96\text{ g/L} \pm 0,83$ ($p=0,001$). Por el contrario, no se objetivaron diferencias significativas entre la alimentación con LA o LM y la presencia de ferropenia (6% LM vs LA 5%), tampoco se observaron diferencias en los niveles de ferritina, hierro, transferrina sérica y o saturación de transferrina (tabla.19).

En la literatura científica, las cifras de ferropenia en el contexto de LM exclusiva a los 6 meses, se encuentra en el rango de 0-15% y para anemia ferropénica de 0-4% (Ziegler et al., 2011), (Burke, Leon, & Suchdev, 2014).

En concordancia con nuestros resultados, un estudio previo encuentra una mayor prevalencia de anemia en lactantes con LM. Se trata de una cohorte de 928 RN en Inglaterra, que reporta valores de anemia y ferropenia en lactantes alimentados con LM frente a los alimentados con LA, y leche de vaca (LV). Se demostraron diferencias significativas en la incidencia de anemia a los 6 meses, con una mayor proporción de anemia en los lactantes que recibieron LM (32%), frente a los que recibieron LV (28%) y LA (20%). Respecto a las cifras de ferropenia, se objetivo un 5% en LM, un 2% en LA y un 7% en los alimentados con LV. A los 12 meses persistía una mayor proporción de anemia en los pacientes con LM, 27% frente al 15% de LA y el 27% en LV; la proporción de ferropenia se mantuvo estable, 5% ,3% y 11% en LM, LA, y LV, respectivamente (Hopkins et al., 2007).

El trabajo de Hopkins y col, con una amplia muestra, refrenda nuestros hallazgos, con valores significativamente más altos de anemia en lactantes que reciben LM frente a los alimentados con LA, sin diferencias respecto al número de lactantes con ferropenia. Siendo la prevalencia de ferropenia baja a los 6 meses en nuestra población, tanto en los lactantes que reciben LM como en los que reciben LA. Este dato, sugiere que hasta los 6 meses de vida, la alimentación exclusiva con LM cubre de forma correcta los requerimientos de hierro que precisa el lactante.

Por otro lado, nuestros resultados ponen en entredicho la práctica común, en los lactantes de medir la hemoglobina para identificar anemia. Las causas más frecuentes, de anemia en lactantes son la deficiencia de hierro y las infecciones intercurrentes (Desforges & Oski, 1993).

En la actualidad, en los países industrializados ha aumentado el número de lactantes que reciben LM o una fórmula enriquecida con hierro y no se introduce la leche de vaca por lo general antes de los 12 meses de vida. Estas medidas preventivas para evitar el déficit de hierro, han contribuido a disminuir la incidencia de anemia ferropénica (Yip, Binkin, Fleshood, & Trowbridge, 1987). Así, en el presente trabajo, todos los lactantes excepto uno de los que presentaron anemia a los 6 meses, tiene niveles de ferritina dentro de la normalidad; y todos, presentan recuperación de las cifras de Hb de forma espontánea a los 12 meses. Este hecho es importante, y se debe tener en cuenta en la práctica clínica habitual en el manejo del lactante con anemia, a fin de evitar evaluaciones y tratamientos innecesarios. En nuestro trabajo descartamos, por tanto, la ferropenia como causa principal de anemia a los 6 meses. Observamos una prevalencia de ferropenia a los 6 meses es del 7% y de anemia ferropénica del 2%. Estos hallazgos coinciden con lo descrito en la literatura científica previamente. Si tomamos como referencia el estudio NHANES III, la prevalencia de ferropenia es del 7% (Moráis López & Dalmau Serra, 2011), y en general, en países industrializados la prevalencia de ferropenia, según las diferentes series varía entre 0-15%, y la de anemia ferropénica del 0-3% (Ziegler et al., 2011), (Burke et al., 2014).

Es interesante señalar, como posible etiología de la anemia, la posibilidad de “falsa anemia”, Dallman PR, 1995, como Burmants, 1972 describen la posibilidad de que niños con Hb <11mg/dl puedan tener una “falsa anemia”. Burmants señala en su trabajo que un valor de Hb<11mg/dl no es sinónimo de AF. La anemia se define como el valor de concentración de Hb menor a dos desviaciones estándares de la media, por tanto el 2,5% de sujetos sanos son clasificados como anémicos (Stevens, 1998).

Por otro lado Dallman, señala como causa de anemia en la práctica clínica, los procesos infecciosos (Reeves, Yip, Kiley, & Dallman, 1984).

Es importante señalar que el diagnóstico de anemia y ferropenia varía en función de los criterios a la hora de definir lo patológico, aunque también, en menor medida, podría influir la variedad de métodos de análisis (Willows, 2000). En nuestro estudio, se ha optado por definir anemia, siguiendo la recomendación de la OMS (E. M. DeMaeyer, 1981),(E. DeMaeyer & Adiels-Tegman, 1985), como la concentración de hemoglobina menor de 11,0 g/dL que es una definición utilizada en numerosos estudios (Sadowitz & Oski, 1983),(Tatala, Svanberg, & Mduma, 1998)(Walter, Olivares, Pizarro, & Muñoz, 1997),(Abellán Ripoll et al., 1992), (Muñoz Pérez et al., 1995),(Pisacane et al., 1995), (Stoltzfus et al., 1997). Sin embargo, no es infrecuente encontrar estudios que utilizan puntos de corte inferiores: así, algunos estudios definen la anemia en lactantes como hemoglobina inferior a 10,0 g/dL (Sherriff, Emond, Hawkins, & Golding, 1999), (Emond, Hawkins, Pennock, & Golding, 1996). Otros utilizan como punto de corte una hemoglobina menor de 10,5 g/dL (Makrides et al., 1998), y que quizás y en base a los resultados obtenidos en el presente trabajo sería más correcto en poblaciones industrializadas con bajo prevalencia de anemia como la nuestra. Por otro lado, existe una importante variabilidad de criterios utilizados para definir la ferropenia. La deficiencia de hierro, se trata de un proceso complejo que consta de varios estadios. En primer lugar se produce una depleción del hierro corporal que puede detectarse por la disminución de ferritina sérica, luego se afecta la eritropoyesis y finalmente se produce la anemia ferropénica (Desforges & Oski, 1993). Así el marcador más precoz de ferropenia, en estadio inicial, es la ferritina, y es su determinación el método clásicamente utilizado para detectar esta deficiencia. Sin embargo, no se dispone de un punto de corte, universalmente aceptado. En este trabajo, se ha definido la ferropenia como una concentración de ferritina inferior a 12 ng/mL, esta definición concuerda con la utilizada para definir deficiencia de hierro en niños por numerosos autores (Cook, 1982), (Dallman, 1981), (WHO, 2012), (Dewey, 2001).

Sin embargo, en la bibliografía existe gran variabilidad de puntos de corte (Stoltzfus et al., 1997). De tal manera que, dependiendo del punto de corte utilizado en la determinación de ferritina para definir la ferropenia o en la determinación de hemoglobina para definir la anemia ferropénica la prevalencia de estas patologías

puede oscilar. Por ello, en base a la alta prevalencia de anemia a los 6 meses y con el fin de descartar la presencia de ferropenia en estos lactantes, se utilizaron otros parámetros utilizados en literatura para definir ferropenia de forma aislada y agrupada, como $VCM < 70$, $Sat \text{ transferrina} < 10\%$ (Dallman, 1984), sin embargo, las prevalencias de ferropenia y anemia ferropénica no se modificaron significativamente, de tal manera que la ferropenia no justificaría la alta prevalencia de anemia en esta franja de edad en este trabajo.

Cabe destacar también como posible etiología de anemia, la inflamatoria, o infecciosa, de los casos de anemia en nuestro trabajo, descartamos la posibilidad de procesos agudos, ya que los lactantes debían haber estado al menos 3 semanas libres de procesos infecciosos antes de la extracción sanguínea. Además, para el análisis de prevalencia de anemia y ferropenia y valores de referencia de hepcidina, se excluyeron aquellos pacientes con un valor de PCR $> 10 \text{ mg/l}$, con el objetivo de excluir a aquellos pacientes con procesos inflamatorios o infecciosos agudos, por su influencia en el metabolismo del hierro (Abrah K. 2003). En el análisis de resultados, tampoco se encontró relación entre la variable infección y la presencia de anemia a los 6 meses. Se realizó el análisis de este subgrupo con anemia a los 6 meses, con los valores de PCR, interleucinas, y VCM sin evidenciarse diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados en este subgrupo con anemia. Sin embargo, no podemos descartar la relación entre la presencia de anemia en nuestra población e infecciones o inflamación leve, subclínica. En la bibliografía, hay estudios que demuestran este hecho, Así, Olivares y cols. demuestran una disminución de la cifra de Hb a las 1,5-2 semanas después de la inmunización, y en algunos casos, de la persistencia de esta anemia hasta un mes después de la vacunación, por lo que el lapso de tiempo necesario para que se resuelva estas anemias leves secundarias a inflamación podría ser superior a un mes, (Olivares, Walter, Hertrampf, & Pizarro, 1999), (Abshire & Reeves, 1983), (Jansson, Kling, & Dallman).

La elevada proporción en nuestra muestra, de lactantes con anemia a los 6 meses, (17%), podría tener una etiología inflamatoria, dada la importante exposición a antígenos patógenos y vacunaciones en esta etapa. Además todos los lactantes con

anemia a los 6 meses presentaron resolución espontánea de la anemia a los 12 meses, y se descartó la etiología nutricional.

En este sentido encontramos una relación significativa entre los valores de Hb y los niveles de PCR a los 6 meses que no se evidencia a los 12 meses, lo que sugiere una etiología inflamatoria de la anemia a los 6 meses. Cabe destacar que un 33% de los lactantes de nuestra muestra, tienen valores de PCR por encima de 5 mg/l, por tanto, es posible que niveles leves de inflamación junto a un sistema inmunitario en desarrollo, produzcan cambios transitorios en la concentración de Hb, por lo que la anemia a los 6 meses tendría una etiopatogenia inmunitaria.

Esta relación, confirmaría nuestra hipótesis: infecciones leves y recurrentes en el lactante darían lugar a un estado inflamatorio y a anemia secundaria a la inflamación.

Nuestros resultados, sugieren que ante un lactante con anemia y antecedente de vacunación, y o proceso infeccioso previo, el enfoque más prudente sería una conducta expectante. Es probable que sea necesario un intervalo de 1- 3 meses para que se resuelva la anemia, y por tanto, se debe evitar emprender evaluaciones, o terapias innecesarias con hierro.

La anemia de la inflamación no es dañina y además hay evidencia, de que el tratamiento con hierro, no resuelve la anemia inflamatoria e incluso puede ser perjudicial (Olivares, Walter, Osorio, Chadud, & Schlesinger, 1989). Si es conveniente, si la anemia persiste en el tiempo, buscar la etiología de la inflamación.

Otra opción diagnóstica posible de esta prevalencia de anemia a los 6 meses, sería la anemia fisiológica. La etiopatogenia de esta entidad se explicaría por una mayor tensión de oxígeno tras el nacimiento, después del cambio de oxigenación de origen materno al ambiental, esto ocasionaría una disminución de la eritropoyesis, con disminución del número de reticulocitos, y de la concentración de hemoglobina. Al final, conforme se desplaza hacia la derecha la curva de disociación hemoglobina oxígeno, con la conversión de la hemoglobina fetal a adulta, y a medida que se reduce la Hb, se alcanzaría un umbral de Sat O₂. Esto provoca que la médula ósea reciba una señal de

incremento de la producción de eritropoyetina que estimularía la eritropoyesis y aumentaría la hemoglobina. Esta disminución de la producción de hemoglobina junto con el acortamiento de la vida media de los eritrocitos fetales, hace que llegue a un nadir o punto más bajo fisiológico de la hemoglobina, que se describe a las 7-10 semanas de vida. Es posible que esta disminución de la concentración de Hb pueda prolongarse en el tiempo debido a factores externos relacionados con la LM como mediadores inmunitarios ($INF \gamma$, $TNF \beta$), que podrían inhibir directamente la eritropoyesis o la secreción de eritropoyetina. Esta posible etiología vincularía también la anemia de los 6 meses a una respuesta inmunitaria característica de esta edad. Esta influencia del sistema inmunitario ya ha sido señalada como causa de anemia en embarazadas (Wei Sheng, 2006) objetiva un menor nivel de citocina IL-2 en mujeres embarazadas respecto a no gestantes, dato observado también en nuestros resultados en lactantes con LM.

En definitiva, nuestros resultados demuestran, que anemia no es sinónimo de anemia ferropénica en nuestro medio y por tanto, la concentración de hemoglobina no es suficiente para definir ferropenia en regiones que como la nuestra, tienen una baja prevalencia de anemia ferropénica. Es importante considerar la etiología inflamatoria en los lactantes. Además, se cuestiona la utilidad de los diferentes puntos de corte establecidos actualmente para el diagnóstico de anemia y ferropenia en países desarrollados y que ya ha sido señalada por otros autores previamente (Schneider JM., 2005), (Biondich PG, 2006).

Estudio niveles de Inmunoglobulinas.

Respecto al análisis de inmunoglobulinas en nuestra muestra, señalar que ninguno de los lactantes presentó hipogammaglobulinemia IgG o IgM.

Se observó una tendencia a que los lactantes alimentados con LM tuvieran menores niveles de IgM, 0,41mg/dL (IC 0.31-0,57) frente a los alimentados con LA, 0,46 mg/dL (IC 0.39-0,69) $p=0,06$.

Este dato se justifica en base al menor número de infecciones que padecen los lactantes alimentados con LM y por tanto a un menor estímulo inmunitario. En este sentido se observan mayores niveles de IgA y de IgM a los 6 y a los 12 meses en los pacientes que tuvieron infecciones. Los valores IgM a los 6 meses fueron de 0,43 mg/dL en lactantes sin procesos infecciosos a los 6 meses respecto a niveles de IgA de 0,55 mg/dL ($p= 0,001$) y a los 12 meses los valores fueron 0,68 mg/dL vs 0,77 mg/dL ($p= 0,03$).

Estudio de la Hepcidina sérica.

En el presente trabajo se determinaron los niveles de referencia de hepcidina a los 6 y 12 meses de vida, en lactantes sin anemia, ni ferropenia y $PCR < 10 \text{ mg/dl}$, con la finalidad de descartar los niveles de hepcidina que pudieran estar alterados por estados inflamatorios basales o estados carenciales de hierro. A los 6 meses los niveles de hepcidina observados fueron de 42 ng/ml (IC 35,73-52,84) y a los 12 meses de 53,27 ng/ml (IC 41,56-73,47). A diferencia de otras publicaciones (Cangemi et al., 2013), (Mupfudze et al., 2015), en nuestra serie no se objetivaron diferencias en los niveles de hepcidina por sexo (tabla. 23). Es muy probable que como sucede con los valores de ferritina, esta diferencia dependa de la edad.

La mayoría de series previas son resultado de estudios transversales, y en general reportan niveles menores de hepcidina, a los nuestros, en un rango de 4,5 a 25,5 ng/ml (Mupfudze et al., 2015), (Hyoung Soo y Cols, 2012), (Prentice et al., 2012), (Baumgartner & Barth-Jaeggi, 2015), (Arezes & Nemeth, 2015), (Jaeggi T y cols, 2015).

La diferencia de valores con nuestro estudio, podría justificarse, por las características de la población de estos estudios, ya que se trata de poblaciones con altas prevalencia de anemia ferropénica, realizados en África, lo que implicaría una disminución de los niveles de hepcidina con el fin de aumentar la disponibilidad de hierro en el organismo. En población europea, contamos con el trabajo de Uijterschout y col, 2014, Krott y Tessel E. Galesloot, 2015, los dos realizados en los Países Bajos, el de Uijterschout y cols. es el único pediátrico, se trata de un estudio transversal realizado en 219 niños de 6 meses a 3 años, de los cuales 64 son de 0,5 a 1 año y se describen valores de

hepcidina de 10,1 ng/ml (IC 2,4-28,6), también por debajo de nuestros resultados. Al igual que en nuestro trabajo, no se objetivaron diferencias por sexo en los niveles de hepcidina (Uijterschout et al., 2015).

Es importante destacar que el presente estudio es el primer estudio de carácter longitudinal realizado en población europea y que por tanto, nos permite valorar la evolución en el tiempo de los niveles de hepcidina. En este sentido, se describe un incremento significativo en los niveles de hepcidina sérica de los 6 a los 12 meses de vida, 6 meses 42 ng/ml (IC 35,73-52,84) vs 53, 27 ng/ml (IC 41,56-73,47) a los 12 meses ($p < 0.0001$). Estudios previos describen una disminución en los niveles de hepcidina de los 6 a los 12 meses de vida, si bien, se trata de estudios realizados en áreas de África, con una elevada prevalencia de anemia y por tanto no equiparables.

Respecto a la asociación de la hepcidina con los parámetros bioquímicos del hierro y la Hb, las series publicadas en niños evidencian una correlación significativa entre hepcidina y ferritina sérica (Müller, Lorenz, Poets, Westerman, & Franz, 2012) (Uijterschout et al., 2015) (Cakir et al., 2015) Jaeggi T, 2013; Prentice AM. y col. 2015; Murat Cakir y col. 2015; Jaeggi T y cols. 2013; Hyoung Soo Choi y cols. 2012; Uijterschout L. y col. 2014). Sin embargo, en nuestra muestra, no se objetivó esta correlación.

Destacamos que en el presente trabajo hemos evaluado también por primera vez la influencia de la alimentación del lactante (LM vs LA) en los niveles de hepcidina. En este sentido, nos parece de gran interés, que los lactantes alimentados con LM tienen unos niveles de hepcidina significativamente menores, que los que recibieron LA 39,35 ng/ml (IC 29,2-50,1) vs 46,0 ng/ml (IC 37,8-60,2); $p = 0,034$. Este hallazgo explicaría dos propiedades ampliamente demostradas en la literatura de la lactancia materna; por un lado un papel inmunomodulador (Hernell & Lönnerdal, 2011), (Lönnerdal B, 2003), (Peroni DG. 2010), y por otro lado, la alta biodisponibilidad del hierro de la leche materna. La LM tiene entre 0,3 -0,5 mg de hierro por litro y la leche de vaca 0,98 a 1 mg/L. No obstante, la absorción de hierro de la leche materna es casi de un 50% frente al 10% para la LA. Es posible que esta mayor disponibilidad de hierro

en los lactantes con LM, sea facilitada por la presencia de una hepcidina baja que facilita la absorción de hierro en la luz intestinal.

Por otro lado, los niveles de hepcidina de los lactantes que recibieron LA con alto contenido en hierro (1,16 mg/100ml) fueron significativamente menores respecto a los lactantes que recibieron LA con bajo contenido en hierro (0,44mg/100ml). Este resultado sugiere un mecanismo regulador mediante la hepcidina del metabolismo del hierro en lactantes.

Estudio de la Inflamación

En la muestra de niños estudiada la prevalencia de inflamación afecta a un 18.5% de los lactantes siguiendo el criterio de considerar inflamación un valor de PCR mayor de 10 mg/L (Grajeda, Pérez-Escamilla, & Dewey, 1997), (Asobayire, 2001), (Olivares, 2001), si fuéramos más restrictivos siguiendo a otros autores que definen inflamación como un valor de proteína C reactiva mayor de 5 mg/L, un tercio de los lactantes de nuestra muestra presentarían inflamación (33%). Varios estudios que coinciden en utilizar esta misma definición, en niños pequeños de áreas endémicas de malaria, encuentran resultados similares con una prevalencia de inflamación cercana al 40% (McGuire et al.), (Schneider et al., 2008), (Grajeda et al., 1997).

Resultados citocinas inflamatorias.

La medición de ciertas citocinas en suero está adquiriendo considerable importancia clínica en cuanto al diagnóstico y tratamiento de determinadas patologías.

Así, la detección de IL-1, TNF- α , IL-6 e IL-8 pueden determinarse en suero ante procesos infecciosos agudos (Zoli et al., 1994). Como tratamiento se han utilizado ante la deficiencia de la producción de citocinas en RN y lactantes, y como tratamiento sustitutivo en procesos infecciosos agudos graves y trastornos crónicos como la hepatitis C.

Para simplificar su análisis las citocinas pueden agruparse según función o funciones biológicas en distintas categorías: factores de crecimiento hematopoyéticos, inmuno-estimulantes, inflamatorias y citocinas antiinflamatorias. Entre las citocinas inflamatorias y estimulantes se encuentran la IL-2, IL-1, IL-6, TNF, e INF, (Sorensen & Moore, 1994).

En nuestro estudio, se describen valores de referencia de citocinas en lactantes sanos a los 6 y 12 meses. Al comparar los perfiles de citocinas a los 6 y 12 meses, encontramos una diferencia significativa con una mayor expresión de las citocinas IL-2 y TNF- β , a los 12 meses frente a los 6 meses (tabla 32).

La IL-2 tiene una participación transcendental en la proliferación de células T auxiliares y citotóxicas activadas y participa también en la expansión y diferenciación de células naturales asesinas y linf. B; también regula la respuesta inmunitaria e interviene en la reacción inflamatoria, estimulando la síntesis de interferón, e induciendo la liberación de IL-1, TNF- α y TNF- β . Además, IL-2 es necesaria para el establecimiento de la memoria inmunitaria celular, así como, para el reconocimiento de antígenos. (Stites, Caldwell, Carr, & Fudenberg, 1975).

El incremento de IL-2, factor de crecimiento de células B y T, de los 6 a los 12 meses iría a favor del desarrollo y maduración de la respuesta inmune, en relación con la exposición y la respuesta inmunitaria a antígenos durante esta etapa, hecho que confirmaría un cambio hacia Th1 (Stites et al., 1975).

En este sentido, en el presente trabajo, no se objetiva una correlación positiva y significativa con citocinas inflamatorias y la presencia de procesos infecciosos. Sin embargo, nuestros datos evidencian un aumento significativo de citocinas inflamatorias (IL-1, TNF- β) y en general una tendencia al incremento de todas las citocinas inflamatorias de los 6 a los 12 meses y paralelamente un incremento de los niveles de hepcidina. Este dato confirma parte de nuestra hipótesis, ya que apoyaría la regulación por parte del sistema inmunitario, citocinas inflamatorias (IL-1, TNF- β) de los niveles de hepcidina en lactantes.

La maduración del sistema inmunitario tras la exposición a antígenos específicos en procesos infecciosos con liberación de citocinas inmunoestimulantes (IL-2), daría lugar a un incremento niveles de IL-1 y TNF- β y paralelamente de hepcidina.

La IL-1, es secretada por macrófagos y estimula a las células NK y B con función inflamatoria, además promueve la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos, como la hepcidina, (Tsutsui, Cai, & Hayashi, 2015). En el presente estudio el análisis de la correlación entre los niveles plasmáticos de las citocinas inflamatorias y los niveles séricos de hepcidina, objetivamos una correlación significativa e independiente tanto a los 6 como a los 12 meses de vida. A los 6 meses, con INF- γ ($r = 0,27$; $p = 0,02$), IL1- β ($r = 0,28$; $p = 0,018$) y TNF- β , ($r = 0,29$; $p = 0,01$) y a los 12 meses con IL1- β ($r = 0,41$; $p < 0,0001$) y TNF- β , ($r = 0,44$; $p < 0,0001$). Además, analizamos la influencia de los niveles de hepcidina en los niveles de citocinas; para ello, determinamos los niveles de citocinas para los diferentes puntos de corte de hepcidina: mediana, percentil 75% y percentil 25% y observamos para todos los puntos de corte, mayores niveles de IL1- β y TNF- β en el grupo de mayor nivel de hepcidina. Por tanto, se demuestra una relación positiva y significativa entre los niveles de hepcidina en lactantes y los niveles de citocinas inflamatorias IL1- β y TNF- β . Esta relación es la primera vez que se describe en lactantes (tablas 38, 39, 43 y 44).

Previamente, si había sido descrita la influencia de IL-1, INF- γ e IL6 en población adulta, en relación a la etiopatogenia de la anemia inflamatoria crónica (Nemeth et al., 2004), (Frazier, Mamo, Ghio, & Turi, 2011). En población pediátrica, hay un estudio que muestra correlación de Hepcidina con IL-6 (Baumgartner & Barth-Jaeggi, 2015). Jaeggi T y cols. demuestra una correlación negativa de INF- γ , TNF- α con hepcidina, estudian 173 niños de 6 meses, sin embargo la muestra tiene una elevada prevalencia de anemia de 76,3% y de ferropenia de 29,8% y un alto porcentaje de pacientes con PCR elevada, características muy distintas a nuestra muestra.

En población pediátrica podemos resaltar además el estudio de Cherian y cols, la población estudiada difiere de la nuestra, son refugiados africanos ($n = 180$) con edad de 8 años + 4,3, y alta prevalencia de anemia ferropénica (13,8%). Estudia también la

relación de la hepcidina y citocinas inflamatorias, sin demostrar relación con IL1- β , IL-6, TNF- α , INF- γ (Cherian et al., 2008). Una de las principales limitaciones de este estudio es la determinación de hepcidina en orina y no sérica y por tanto hepcidina no activa, no funcional y que no demuestra por tanto relación causal con la inflamación, por tanto no es equiparable al nuestro en cuanto a población ni método determinación de hepcidina.

En nuestro trabajamos si objetivamos una correlación significativa inversa entre la concentración de Hb y la expresión de IL6 (Rho= -0,26, p=0,036) y de la hepcidina con la presencia de anemia a los 12 meses pero no a los 6 meses.

A los 6 meses se evidencia correlación directa y significativa entre el nivel de ferritina y la expresión del TNF- β .

Nuestro estudio demuestra, que la hepcidina se comporta, como un marcador inflamatorio en pediatría, no solo en procesos agudos y graves (Taiç Wei Wu y colaboradores (Tai Wei Wu, 2013), sino también en relación a estímulos inflamatorios recurrentes que dan lugar a una expresión de citocinas proinflamatorias y maduración de la respuesta inmune, como se demuestra en el presente trabajo.

En este sentido, se confirmaría, el papel regulador de la respuesta inmunitaria en los niveles de hepcidina en lactantes de 6 meses y 12 meses, y el papel de la respuesta inmunitaria, citocina proinflamatorias (IL6, TNF- β), a través de la hepcidina en la regulación de la concentración de hemoglobina y ferritina en el lactante sano.

Es conocida la relación entre infección y anemia. Se postula, que ante la infección el organismo responde disminuyendo la disponibilidad de hierro para limitar la proliferación patógena, lo que daría lugar a disminución del hierro sérico. Esto se conseguiría disminuyendo la absorción de hierro en el intestino y en segundo lugar, ligando excesivamente el hierro a los macrófagos y evitan su liberación a la médula ósea, limitando la eritropoyesis, y con un aumento de los depósitos de hierro. Recientemente, se ha descrito a la hepcidina como una pieza clave este mecanismo,

describiéndose un aumento de su producción en respuesta a citocinas inflamatorias, entre ellas IL-1 y TNF (Wessling-Resnick, 2010).

Nuestros datos sugieren una homeostasis del hierro madura a través de la hepcidina y citocinas inflamatorias, en el lactante, confirmándose nuestra hipótesis inicial.

En el presente trabajo, analizamos también la influencia de la alimentación en la expresión de citocinas y encontramos una menor expresión de IL-2, en los lactantes alimentados con LM frente a los que reciben LA. La expresión de IL-2 se produce tras estímulo del macrófago por un estímulo antigénico patógeno, con secreción de citocinas y polarización de la respuesta inmunitaria hacia Th1. Los linf Th1 producen IL-2 y TNF- β . Este resultado estaría en concordancia con la menor incidencia de procesos infecciosos en los lactantes que reciben LM, persistiendo una respuesta predominantemente Th2 y una menor producción de IL-2 y por tanto de citocinas inflamatorias responsables del aumento de hepcidina. Destaca también la presencia de niveles más bajos de hepcidina en los lactantes con LM. La hepcidina es significativamente menor en los lactantes que reciben LM que en los que reciben LA, lo que concuerda con un estado inflamatorio disminuido en los lactantes amamantados, y por tanto una menor producción de IL-1 y TNF- β e IL-2.

No se objetivan cambios en la expresión de citocinas y niveles de hepcidina a los 12 meses entre los lactantes alimentados con formula de bajo contenido en hierro frente a los lactantes que reciben formula con alto contenido en hierro (tabla. 50).

Esta es la primera vez que se describe una influencia de la alimentación en los niveles de hepcidina sérica.

Por otro lado, destacamos, la relación significativa y directa con IL-1 β y TNF- β en el lactante sano. Esta también es la primera descripción de esta relación en esta población. Previamente se había descrito esta relación en adolescentes con obesidad, este resultado puede sugerir la participación del Linf. Th1 en la regulación de la hepcidina en lactantes, ya que la citocina TNF- β es producida por Linf- T. Hasta el momento únicamente ha sido descrito el papel del macrófago en la etiopatogenia de la anemia inflamatoria (Sharma et al., 2005), (Nemeth, 2004).

En resumen, nuestros resultados demuestran una relación entre citocinas inflamatorias y niveles de hepcidina, lo que sugiere un papel clave de la hepcidina en la respuesta inmunitaria innata del lactante sano. Se objetiva también relación entre los niveles de hepcidina y hemoglobina y entre hepcidina y ferritina, lo que implica una regulación del metabolismo del hierro a través de la hepcidina en el lactante. La presencia de niveles más bajos de hepcidina en los lactantes alimentados con LM y fórmula láctea con menor contenido de hierro, así como el no aumento de los niveles de hepcidina de los 6 a los 12 meses en los lactantes con anemia y ferropenia a los 6 meses, apoyan este mecanismo de regulación de la hepcidina en lactantes.

5.4. Dificultades y limitaciones

Una de las principales dificultades del trabajo como sucede en los estudios longitudinales fue asegurar la adhesión de las familias al seguimiento. Para aumentar la adhesión al protocolo se realizaron las visitas del mes y de los 3 meses de vida. Al tratarse de un periodo crítico para los padres, estas visitas realizadas por un pediatra afianzaban la relación médico familia. La adhesión se afianzó a partir de los 6 meses, con la entrega de alimentos enriquecidos en hierro, cereales y fórmula adaptada. Este punto era clave en el seguimiento, al realizarse la extracción sanguínea; que era el principal motivos de abandono del estudio.

Coincidiendo con la entrega de alimentos enriquecidos a los 6 meses, se decidió realizar el estudio de intervención para valorar el efecto de la suplementación de diferentes dosis de hierro en la fórmula adaptada. Sin embargo, hubo problemas de abastecimiento de la fórmula adaptada enriquecida con dosis baja en hierro, y por tanto hubo que suspender la aleatorización establecida inicialmente, proporcionando al resto de niños incluidos en el estudio fórmula adaptada con alto contenido de hierro, ya que coincidía con la fórmula comercial y estaba por tanto, disponible en el mercado. En base a esta dificultad, la muestra se distribuyó finalmente como una aleatorización 3:1. y por tanto, la intervención no se randomizó de forma adecuada.

Cabe destacar el pequeño tamaño de la muestra de lactantes que recibieron LA con bajo contenido en hierro. Sin embargo, a pesar de esta limitación, en los resultados encontramos un elevado número de lactantes con ferropenia a los 12 meses en el grupo con una ingesta menor de hierro, sin efecto de la intervención en las otras variables estudiadas.

Otra de las limitaciones claras del trabajo es el registro de la variable infección. A pesar de haber realizado un seguimiento estrecho de las familias, el seguimiento no ha sido continuo y por tanto existen posibles sesgos de memoria o de interpretación de los padres en el análisis de esta variable.

Además, el hecho de haber contemplado únicamente las infecciones que asociaban fiebre a fin de definir correctamente esta, implica la pérdida de procesos infecciosos que podrían interferir en el análisis final de resultados.

Otra importante limitación es la sensibilidad del método de determinación de las citocinas, de tal manera, que en el análisis encontramos frecuentemente niveles de citocinas por debajo del rango de detección de la técnica utilizada. Para el análisis de resultados se asignó a estos valores la sensibilidad referenciada en la técnica para cada citocina, sin embargo esta asignación aleatoria y homogénea para las muestras que están por debajo del límite de detección no ha permitido discriminar los diferentes valores por debajo de este rango, y por tanto, podrían no haberse evaluado diferencias en la expresión de citocinas en estos niveles infra diagnosticados, y que podrían tener repercusión en los resultados finales.

Destacar también como limitación, la baja prevalencia de anemia ferropénica a los 6 y 12 meses, que dificulta la valoración de resultados respecto a comorbilidades y evolución de estos pacientes. Así como el corto seguimiento en el tiempo, un año, que impide valorar resultados a medio y largo plazo.

6. CONCLUSIONES.

6. Conclusiones.

En relación al Objetivo principal 1. Estudiar la Influencia de los procesos infecciosos en la expresión de citocinas inflamatorias, metabolismo del hierro (ferritina, hierro y hepcidina) y la presencia de anemia en lactantes sanos

1. No se evidencia relación entre el antecedente de procesos infecciosos y la expresión de citocinas inflamatorias, parámetros del metabolismo del hierro o presencia de anemia.

En relación al Objetivo principal 2. Analizar la relación entre la expresión de citocinas inflamatorias y el metabolismo del hierro (ferritina, hierro y hepcidina) y la presencia de anemia en lactantes sanos a los 6 y 12 meses de vida.

1. Se evidencia un aumento de la expresión de citocinas inflamatorias y de hepcidina de los 6 a los 12 meses de vida, con una correlación positiva y significativa entre las citocinas inflamatorias y hepcidina: IL1- β , TNF- β , e INF- γ a los 6 meses de vida; e IL1- β y TNF- β , a los 12 meses de vida.
2. Existe una correlación inversa entre la expresión de citocinas inflamatorias (IL-6) y la concentración de hemoglobina a los 12 meses de vida.
3. Se objetiva una relación positiva entre la expresión de citocinas inflamatorias y los niveles de ferritina sérica a los 6 meses.

En relación a los objetivos secundarios.

1. *Determinar la prevalencia de ferropenia y anemia en lactantes sanos en nuestra área de estudio.*

- La prevalencia de ferropenia en la población de estudio es de un 7% a los 6 meses y del 20 % a los 12 meses.
- La prevalencia de anemia de la población de estudio es de un 17% a los 6 meses y del 3,5 % a los 12 meses.

2. *Determinar los niveles de hepcidina en el lactante sano en nuestra población*

En nuestra población objetivamos una mediana de concentración de hepcidina de 42 ng/ml (IC 35.73-52.84), a los 6 meses, y de 53,27 ng/ml (IC 41.56-73.47), a los 12 meses de vida.

3. *Analizar el efecto de la alimentación, en el desarrollo y en el metabolismo del hierro de los lactantes.*

- A los 6 meses de vida, no se objetivaron diferencias significativas en el desarrollo físico y en los niveles de ferritina entre los lactantes alimentados con leche materna respecto a los alimentados con fórmula adaptada.
- Los lactantes que recibieron lactancia materna hasta los 6 meses de vida tuvieron menos procesos infecciosos que los alimentados con fórmula adaptada, y expresaron niveles significativamente menores de IL-2 y de hepcidina sérica.

4. ***Evaluar el efecto de la suplementación dietética en lactantes, con diferentes dosis de hierro de la fórmula adaptada, sobre el metabolismo del hierro, el desarrollo físico y la morbilidad infecciosa.***

- La prevalencia de ferropenia fue significativamente menor en los lactantes que recibieron mayor aporte de hierro (1,16 mg/100ml) en la fórmula adaptada, respecto a los que recibieron un aporte más bajo (0,44mg/100ml).
- No se objetivaron diferencias significativas en la incidencia de procesos infecciosos, ni en la expresión de citocinas pro-inflamatorias a los 12 meses de vida, en los lactantes que recibieron fórmula adaptada con alto contenido en hierro frente a los que recibieron fórmula adaptada con bajo contenido en hierro.
- Se detectaron mayores niveles de hepcidina en los lactantes que recibieron fórmula con un alto contenido en hierro, respecto a los lactantes que recibieron fórmula adaptada con bajo contenido en hierro.

Aplicabilidad del Estudio y Planteamiento Futuros.

El diagnóstico de deficiencia de hierro y de anemia en lactantes sanos en países desarrollados no está bien definido.

Sería necesario realizar estudios que valoraran distintas magnitudes y puntos de corte, frente a variables como la respuesta terapéutica con hierro, y o el estudio de la concentración de eritropoyetina, de tal manera que se pueda discriminar mejor la presencia de anemia y ferropenia.

La suplementación dietética con hierro es beneficiosa en lactantes en la prevención de ferropenia. Sin embargo, los datos disponibles hasta el momento no determinan su efecto en el desarrollo de infecciones y su beneficio en el neurodesarrollo, la evidencia es insuficiente. Nuestro estudio, al igual que la mayoría de publicaciones al respecto, realiza un seguimiento a corto plazo, (1 año). Por tanto, serían necesarios estudios de seguimiento de amplias cohortes a largo plazo que analicen la posible relevancia clínica de estos aspectos.

En el presente estudio se establecen valores de referencia de hepcidina en lactantes sanos en nuestra área, y se describe la posible influencia del TNF- β en los niveles de hepcidina. En este sentido, sería interesante realizar nuevos estudios en población pediátrica de países desarrollados que ratificarán estos valores de referencia de la hepcidina y confirmaran el papel del TNF- β como mediador de la respuesta innata y el metabolismo del hierro en lactantes.

Por último, destacar la primera descripción de niveles de hepcidina más bajos en los lactantes con lactancia materna frente a los alimentados con fórmula adaptada. Este hallazgo podría justificar la razón, hasta el momento inexplicable, de la mayor biodisponibilidad de hierro en la leche materna, y que podrían justificar trabajos en este sentido. Así como, el estudio de posibles factores inmunitarios (INF- γ y TNF- β) que justifiquen una mayor presencia de anemia en los lactantes que reciben LM, mediante el estudio de los niveles de eritropoyetina y la actividad de la médula ósea.

BIBLIOGRAFÍA.

Bibliografía

- Abellán Ripoll, A., Alcaraz Quiñonero, M., Mengual Cos, M., Morcillo Caballero, A., Martínez Gutiérrez, F., González-Moro Prats, L., & Rodenas García, V. (1992). [Prevalence of iron deficiency and iron deficiency anemia in infancy and related factors in a community of the Murcia region]. *Anales Españoles de Pediatría*, 36(4), 265–8.
- Abshire, T. C., & Reeves, J. D. (1983). Anemia of acute inflammation in children. *The Journal of Pediatrics*, 103(6), 868–71.
- Angeles, I. T., Gross, R., Schultink, W., & Sastroamidjojo, S. (1995). Is there a long-term effect of iron supplementation on anemia alleviation? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(2), 440–1.
- Aniansson, G., Alm, B., Andersson, B., Håkansson, A., Larsson, P., Nylén, O., Sabharwal, H (1994). A prospective cohort study on breast-feeding and otitis media in Swedish infants. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 13(3), 183–8.
- Arezes, J & Nemeth, E. (2015). Hcpidin and iron disorders: new biology and clinical approaches. *International Journal of Laboratory Hematology*, 37 Suppl 1, 92–8. <http://doi.org/10.1111/ijlh.12358>
- Arija, V., Fargas, F., March, G., Abajo, S., Basora, J., Canals, J., Aranda, N. (2014). Adapting iron dose supplementation in pregnancy for greater effectiveness on mother and child health: protocol of the ECLIPSES randomized clinical trial. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 14, 33. <http://doi.org/10.1186/1471-2393-14-33>
- Arija, V., Salas, J., Fernández-Ballart, J., & Marti-Henneberg, C. (1990). Iron deficiency risk in children: discrepancy between dietary and biochemical assessments. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift Für Vitamin- Und Ernährungsforschung. Journal International de Vitaminologie et de Nutrition*, 60(2), 150–5.
- Arija Val, V., Fernández Ballart, J., & Salas Salvadó, J. (1997). [Iron deficiency and ferropenic anemia in the Spanish population]. *Medicina Clínica*, 109(11), 425–30.
- Bachrach, V. R. G., Schwarz, E., & Bachrach, L. R. (2003). Breastfeeding and the risk of hospitalization for respiratory disease in infancy: a meta-analysis. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 157(3), 237–43. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12622672>

- Ball, T. M., & Wright, A. L. (1999). Health care costs of formula-feeding in the first year of life. *Pediatrics*, *103*(4 Pt 2), 870–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10103324>
- Baumgartner, J., & Barth-Jaeggi, T. (2015). Iron interventions in children from low-income and middle-income populations: benefits and risks. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *18*(3), 289–94. <http://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000168>
- Bogen, D. L., Duggan, A. K., Dover, G. J., & Wilson, M. H. (2000). Screening for iron deficiency anemia by dietary history in a high-risk population. *Pediatrics*, *105* (6), 1254–9.
- Burke, R. M., Leon, J. S., & Suchdev, P. S. (2014). Identification, prevention and treatment of iron deficiency during the first 1000 days. *Nutrients*, *6*(10), 4093–114. <http://doi.org/10.3390/nu6104093>
- Cakir, M., Erduran, E., Turkmen, E., Aliyazicioglu, Y., Reis, G., Cobanoglu, U., & Demir, S. (2015). Hcpidin levels in children with chronic liver disease. *Saudi Journal of Gastroenterology*, *21*(5), 300. <http://doi.org/10.4103/1319-3767.166205>
- Cangemi, G., Pistorio, A., Miano, M., Gattorno, M., Aquila, M., Bicocchi, M. P., ... Dufour, C. (2013). Diagnostic potential of hepcidin testing in pediatrics. *European Journal of Haematology*, *90*(4), 323–30. <http://doi.org/10.1111/ejh.12081>
- Carding SR, Heyday AC, Bottom K, y cols: cytokine in T cell development. *IMMnunol Today* 12:239, 1991
- Cherian, S., Forbes, D. A., Cook, A. G., Sanfilippo, F. M., Kemna, E. H., Swinkels, D. W., & Burgner, D. P. (2008). An insight into the relationships between hepcidin, anemia, infections and inflammatory cytokines in pediatric refugees: a cross-sectional study. *PloS One*, *3*(12), e4030. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0004030>
- Conclusions and recommendations of the WHO Consultation on prevention and control of iron deficiency in infants and young children in malaria-endemic areas (2007). *Food and Nutrition Bulletin*, *28*(4 Suppl), S621–7.
- Cook, J. D. (1982). Clinical evaluation of iron deficiency. *Seminars in Hematology*, *19*(1), 6–18.
- Dallman, P. R. (1981). Iron deficiency: diagnosis and treatment. *The Western Journal of Medicine*, *134*(6), 496–505.

- Dallman, P. R. (1984). Diagnosis of anemia and iron deficiency: analytic and biological variations of laboratory tests. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39(6), 937–41.
- Dallman, P. R., Yip, R., & Johnson, C. (1984). Prevalence and causes of anemia in the United States, 1976 to 1980. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39(3), 437–45.
- de Andraca, I., Castillo, M., & Walter, T. (1997). Psychomotor development and behavior in iron-deficient anemic infants. *Nutrition Reviews*, 55(4), 125–32.
- de Onis, M., Garza, C., Onyango, A. W., & Rolland-Cachera, M.-F. (2009). [WHO growth standards for infants and young children]. *Archives de Pédiatrie: Organe Officiel de La Société Française de Pédiatrie*, 16(1), 47–53. <http://doi.org/10.1016/j.arcped.2008.10.010>
- DeMaeyer, E., & Adiels-Tegman, M. (1985). The prevalence of anaemia in the world. *World Health Statistics Quarterly. Rapport Trimestriel de Statistiques Sanitaires Mondiales*, 38(3), 302–16.
- DeMaeyer, E. M. (1981). The role of WHO in the control of nutritional anaemia. *Progress in Clinical and Biological Research*, 77, 363–70.
- Desforges, J. F., & Oski, F. A. (1993). Iron Deficiency in Infancy and Childhood. *New England Journal of Medicine*, 329(3), 190–193. <http://doi.org/10.1056/NEJM199307153290308>
- Dewey, K. G. (2001). Nutrition, growth, and complementary feeding of the breastfed infant. *Pediatric Clinics of North America*, 48(1), 87–104.
- Díez Domingo, J., Ridao López, M., Ubeda Sansano, I., & Ballester Sanz, A. (2006). [Incidence and cost of hospitalizations for bronchiolitis and respiratory syncytial virus infections in the autonomous community of Valencia in Spain (2001 and 2002)]. *Anales de Pediatría (Barcelona, Spain : 2003)*, 65(4), 325–30.
- Emond, A. M., Hawkins, N., Pennock, C., & Golding, J. (1996). Haemoglobin and ferritin concentrations in infants at 8 months of age. *Archives of Disease in Childhood*, 74(1), 36–9.
- Escribano J, Luque V, Ferre N, Mendez- Riera G, Koletzko B, Grote V, Demmelmair H, Bluck L, Wright A, Closa- monasterolo R. Effect Of protein intake and weight gain velocity on body fat mass at 6 moths of age: the EU Childhood Obesity Programme. European Childhood Obesity Trial Study Group. *Int J Obes (Lond)*. 2012 Apr; 36(4):548-53. Doi: 10.1038/ijo.2011.276. Epub 2012 Feb 7.

- Eussen, S., Alles, M., Uijterschout, L., Brus, F., & van der Horst-Graat, J. (2015). Iron intake and status of children aged 6-36 months in Europe: a systematic review. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 66(2-3), 80–92. <http://doi.org/10.1159/000371357>
- Frazier, M. D., Mamo, L. B., Ghio, A. J., & Turi, J. L. (2011). Hcpidin expression in human airway epithelial cells is regulated by interferon- γ . *Respiratory Research*, 12, 100. <http://doi.org/10.1186/1465-9921-12-100>
- Galan, P., Davila, M., Mekki, N., & Hercberg, S. (1988). Iron deficiency, inflammatory processes and humoral immunity in children. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift Für Vitamin- Und Ernährungsforschung. Journal International de Vitaminologie et de Nutrition*, 58(2), 225–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3170097>
- Grajeda, R., Pérez-Escamilla, R., & Dewey, K. G. (1997). Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 mo of age. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65(2), 425–31. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9022526>
- Hercberg, S., Preziosi, P., & Galan, P. (2001). Iron deficiency in Europe. *Public Health Nutrition*, 4(2B), 537–45. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11683548>
- Hernell, O., & Lönnerdal, B. (2011). Recommendations on iron questioned. *Pediatrics*, 127(4), e1099–101; author reply e1101–4. <http://doi.org/10.1542/peds.2011-0201C>
- Hopkins, D., Emmett, P., Steer, C., Rogers, I., Noble, S., & Emond, A. (2007). Infant feeding in the second 6 months of life related to iron status: an observational study. *Archives of Disease in Childhood*, 92(10), 850–4. <http://doi.org/10.1136/adc.2006.114074>
- James, J. A., Laing, G. J., Logan, S., & Rossdale, M. (1997). Feasibility of screening toddlers for iron deficiency anaemia in general practice. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 315(7100), 102–3.
- Jansson, L. T., Kling, S., & Dallman, P. R. Anemia in children with acute infections seen in a primary care pediatric outpatient clinic. *Pediatric Infectious Disease*, 5(4), 424–7.
- Kassebaum, N. J., Jasrasaria, R., Naghavi, M., Wulf, S. K., Johns, N., Lozano, R., Murray, C. J. L. (2013). A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*, 123(5), 615–624. <http://doi.org/10.1182/blood-2013-06-508325>.

- Kossiva, L., Soldatou, A., Gourgiotis, D. I., Stamati, L., & Tsentidis, C. (2013). Serum hepcidin: indication of its role as an “acute phase” marker in febrile children. *Italian Journal of Pediatrics*, 39, 25. <http://doi.org/10.1186/1824-7288-39-25>
- Lopez, A., Cacoub, P., Macdougall, I. C., & Peyrin-Biroulet, L. (2015). Iron deficiency anaemia. *Lancet (London, England)*. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60865-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60865-0)
- Lozoff, B., Castillo, M., Clark, K. M., & Smith, J. B. (2012). Iron-fortified vs low-iron infant formula: developmental outcome at 10 years. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 166(3), 208–15. <http://doi.org/10.1001/archpediatrics.2011.197>
- Makrides, M., Leeson, R., Gibson RA p6, & Simmer, K. (1998). A randomized controlled clinical trial of increased dietary iron in breast-fed infants. *The Journal of Pediatrics*, 133(4), 559–62.
- McGuire, W., D’Alessandro, U., Olaleye, B. O., Thomson, M. C., Langerock, P., Greenwood, B. M., & Kwiatkowski, D. C-reactive protein and haptoglobin in the evaluation of a community-based malaria control programme. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(1), 10–4.
- MacLean E, Cogswell M, Eggli I. Worldwide prevalence of anaemia. WHO vitamin and mineral nutrition information system 1993-2005. *Public Health Nutr.* 2009; 12:444-54.
- Menendez, C., Kahigwa, E., Hirt, R., Vounatsou, P., Aponte, J. J., Font, F. Alonso, P. L. (1997). Randomised placebo-controlled trial of iron supplementation and malaria chemoprophylaxis for prevention of severe anaemia and malaria in Tanzanian infants. *Lancet (London, England)*, 350(9081), 844–50. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)04229-3](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)04229-3)
- Moin, A., & Lassi, Z. S. Can routine screening and iron supplementation for iron deficiency anemia in nonsymptomatic pregnant women improve maternal and infant health outcomes? *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 4(3), 333–4. <http://doi.org/10.4103/2249-4863.161310>
- Moráis López, A., & Dalmau Serra, J. (2011). Importancia de la ferropenia en el niño pequeño: repercusiones y prevención. *Anales de Pediatría*, 74(6), 415.e1–415.e10. <http://doi.org/10.1016/j.anpedi.2011.01.036>

- Morley, R., Abbott, R., Fairweather-Tait, S., MacFadyen, U., Stephenson, T., & Lucas, A. (1999). Iron fortified follow on formula from 9 to 18 months improves iron status but not development or growth: a randomised trial. *Archives of Disease in Childhood*, *81*(3), 247–52.
- Müller, K. F., Lorenz, L., Poets, C. F., Westerman, M., & Franz, A. R. (2012). Hepcidin concentrations in serum and urine correlate with iron homeostasis in preterm infants. *The Journal of Pediatrics*, *160*(6), 949–53.e2. <http://doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.12.030>
- Muñoz Pérez, M. A., García Vera, C., Galve Royo, F., Fortea Gimeno, E., Olmedillas Alvaro, M. J., Muñoz Izquierdo, M. P., Montaner Cosa, C. (1995). [Is general screening for anemia and iron deficiency justified in nursing infants?]. *Atencion Primaria / Sociedad Española de Medicina de Familia Y Comunitaria*, *15*(7), 446–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7766757>
- Mupfudze, T. G., Stoltzfus, R. J., Rukobo, S., Moulton, L. H., Humphrey, J. H., & Prendergast, A. J. (2015). Plasma Concentrations of Hepcidin in Anemic Zimbabwian Infants. *PloS One*, *10*(8), e0135227. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0135227>
- Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., Keller, C., Taudorf, S., Pedersen, B. K., & Ganz, T. (2004). IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *Journal of Clinical Investigation*, *113*(9), 1271–1276. <http://doi.org/10.1172/JCI20945>
- Nogueira Arcanjo, F. P., Santos, P. R., Costa Arcanjo, C. P., Meira Magalhães, S. M., & Madeiro Leite, A. J. (2013). Daily and Weekly Iron Supplementations are Effective in Increasing Hemoglobin and Reducing Anemia in Infants. *Journal of Tropical Pediatrics*, *59*(3), 175–9. <http://doi.org/10.1093/tropej/fms071>
- Oddy, W. H., Sly, P. D., de Klerk, N. H., Landau, L. I., Kendall, G. E., Holt, P. G., & Stanley, F. J. (2003). Breast feeding and respiratory morbidity in infancy: a birth cohort study. *Archives of Disease in Childhood*, *88*(3), 224–8.
- Olivares, M., Walter, T., Hertrampf, E., & Pizarro, F. (1999). Anaemia and iron deficiency disease in children. *British Medical Bulletin*, *55*(3), 534–43.
- Olivares, M., Walter, T., Osorio, M., Chadud, P., & Schlesinger, L. (1989). Anemia of a mild viral infection: the measles vaccine as a model. *Pediatrics*, *84*(5), 851–5.
- Palti, H. (2000). Anemia in infancy. *Public Health Reviews*, *28*(1-4), 89–92. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11411283>

- Palupi, L., Schultink, W., Achadi, E., & Gross, R. (1997). Effective community intervention to improve hemoglobin status in preschoolers receiving once-weekly iron supplementation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *65*(4), 1057–61.
- Paricio Talayero, J. M., Lizán-García, M., Otero Puime, A., Benlloch Muncharaz, M. J., Beseler Soto, B., Sánchez-Palomares, M., Rivera, L. L. (2006). Full breastfeeding and hospitalization as a result of infections in the first year of life. *Pediatrics*, *118*(1), e92–9. <http://doi.org/10.1542/peds.2005-1629>
- Parikh, A., Natarajan, S., Lipsitz, S. R., & Katz, S. D. (2011). Iron deficiency in community-dwelling US adults with self-reported heart failure in the National Health and Nutrition Examination Survey III: prevalence and associations with anemia and inflammation. *Circulation. Heart Failure*, *4*(5), 599–606. <http://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.111.960906>
- Petersen, K. M., Parkinson, A. J., Nobmann, E. D., Bulkow, L., Yip, R., & Mokdad, A. (1996). Iron deficiency anemia among Alaska Natives may be due to fecal loss rather than inadequate intake. *The Journal of Nutrition*, *126*(11), 2774–83.
- Pisacane, A., De Vizia, B., Valiante, A., Vaccaro, F., Russo, M., Grillo, G., & Giustardi, A. (1995). Iron status in breast-fed infants. *The Journal of Pediatrics*, *127*(3), 429–31.
- Pisacane, A., Graziano, L., Zona, G., Granata, G., Dolezalova, H., Cafiero, M., ... Mazarella, G. (1994). Breast feeding and acute lower respiratory infection. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, *83*(7), 714–8.
- Prentice, A. M., Doherty, C. P., Abrams, S. A., Cox, S. E., Atkinson, S. H., Verhoef, H., Drakesmith, H. (2012). Hcpidin is the major predictor of erythrocyte iron incorporation in anemic African children. *Blood*, *119*(8), 1922–8. <http://doi.org/10.1182/blood-2011-11-391219>
- Quigley, M., & McGuire, W. (2014). Formula versus donor breast milk for feeding pre-term or low birth weight infants. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *4*, CD002971. <http://doi.org/10.1002/14651858.CD002971.pub3>
- Rao, M. R., Hediger, M. L., Levine, R. J., Naficy, A. B., & Vik, T. (2002). Effect of breastfeeding on cognitive development of infants born small for gestational age. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, *91*(3), 267–74.
- Reeves, J. D., Yip, R., Kiley, V. A., & Dallman, P. R. (1984). Iron deficiency in infants: the influence of mild antecedent infection. *The Journal of Pediatrics*, *105*(6), 874–9

- Roitt IM. *Essential Immunology*. 7ed Oxford; Blackwell Scientific Publications, 1991; 85-100).
- Rubin, D. H., Leventhal, J. M., Krasilnikoff, P. A., Kuo, H. S., Jekel, J. F., Weile, B., ... Berget, A. (1990). Relationship between infant feeding and infectious illness: a prospective study of infants during the first year of life. *Pediatrics*, *85*(4), 464–71.
- Sachdev, H. P. S., & Gera, T. (2013). Preventing childhood anemia in India: iron supplementation and beyond. *European Journal of Clinical Nutrition*, *67*(5), 475–80. <http://doi.org/10.1038/ejcn.2012.212>
- Sadowitz, P. D., & Oski, F. A. (1983). Iron status and infant feeding practices in an urban ambulatory center. *Pediatrics*, *72*(1), 33–6.
- Schneider, J. M., Fujii, M. L., Lamp, C. L., Lönnerdal, B., Dewey, K. G., & Zidenberg-Cherr, S. (2008). The use of multiple logistic regressions to identify risk factors associated with anemia and iron deficiency in a convenience sample of 12-36-month-old children from low-income families. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *87*(3), 614–20.
- Schroth, R. J., Levi, J., Kliewer, E., Friel, J., & Moffatt, M. E. K. (2013). Association between iron status, iron deficiency anaemia, and severe early childhood caries: a case-control study. *BMC Pediatrics*, *13*, 22. <http://doi.org/10.1186/1471-2431-13-22>
- Scrimshaw, N. S. (2000). Comments on the management of iron deficiency and iron deficiency anemia. *Public Health Reviews*, *28*(1-4), 101–4.
- Shaikh, N., Morone, N. E., Bost, J. E., & Farrell, M. H. (2008). Prevalence of urinary tract infection in childhood: a meta-analysis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, *27*(4), 302–8. <http://doi.org/10.1097/INF.0b013e31815e4122>
- Sharma, N., Laftah, A. H., Brookes, M. J., Cooper, B., Iqbal, T., & Tselepis, C. (2005). A role for tumour necrosis factor alpha in human small bowel iron transport. *The Biochemical Journal*, *390*(Pt 2), 437–46. <http://doi.org/10.1042/BJ20050256>
- Sherriff, A., Emond, A., Bell, J. C., & Golding, J. (2001). Should infants be screened for anaemia? A prospective study investigating the relation between haemoglobin at 8, 12, and 18 months and development at 18 months. *Archives of Disease in Childhood*, *84*(6), 480–5.
- Sherriff, A., Emond, A., Hawkins, N., & Golding, J. (1999). Haemoglobin and ferritin concentrations in children aged 12 and 18 months. ALSPAC Children in Focus Study Team. *Archives of Disease in Childhood*, *80*(2), 153–7.

- Siu, A. L. (2015). Screening for Iron Deficiency Anemia in Young Children: USPSTF Recommendation Statement. *Pediatrics*. <http://doi.org/10.1542/peds.2015-2567>
- Sloan, N. L., Jordan, E., & Winikoff, B. (2002). Effects of iron supplementation on maternal hematologic status in pregnancy. *American Journal of Public Health, 92*(2), 288–93.
- Sorensen, R. U., & Moore, C. (1994). Immunology in the pediatrician's office. *Pediatric Clinics of North America, 41*(4), 691–714.
- Stevens, D. (1998). Screening toddlers for iron deficiency anaemia in general practice. No investigation can accurately separate normal from pathological. *BMJ (Clinical Research Ed.), 316*(7125), 145.
- Stiehm ER, Immunodeficiency Disorders: General considerations, In Stiehm ER (ed): Immunologic Disorders In Infants and Children, ed 3. Philadelphia, WB Saunders.1989, p157.
- Stites, D. P., Caldwell, J., Carr, M. C., & Fudenberg, H. H. (1975). Ontogeny of immunity in humans. *Clinical Immunology and Immunopathology, 4*(4), 519–27.
- Stoltzfus, R. J., Chwaya, H. M., Albonico, M., Schulze, K. J., Savioli, L., & Tielsch, J. M. (1997). Serum ferritin, erythrocyte protoporphyrin and hemoglobin are valid indicators of iron status of school children in a malaria-holoendemic population. *The Journal of Nutrition, 127*(2), 293–8.
- Suominen, P., Punnonen, K., Rajamäki, A., & Irjala, K. (1998). Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits. *Blood, 92*(8), 2934–9.
- Tatala, S., Svanberg, U., & Mduma, B. (1998). Low dietary iron availability is a major cause of anemia: a nutrition survey in the Lindi District of Tanzania. *The American Journal of Clinical Nutrition, 68*(1), 171–8.
- Thu, B. D., Schultink, W., Dillon, D., Gross, R., Leswara, N. D., & Khoi, H. H. (1999). Effect of daily and weekly micronutrient supplementation on micronutrient deficiencies and growth in young Vietnamese children. *The American Journal of Clinical Nutrition, 69*(1), 80–6.
- Tsutsui, H., Cai, X., & Hayashi, S. (2015). Interleukin-1 Family Cytokines in Liver Diseases. *Mediators of Inflammation, 2015*, 630265. <http://doi.org/10.1155/2015/630265>
- Tuthill, D. P., Cosgrove, M., Dunstan, F., Stuart, M. L., Wells, J. C. K., & Davies, D. P. (2002). Randomized double-blind controlled trial on the effects on iron status in the

first year between a no added iron and standard infant formula received for three months. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, 91(2), 119–24. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11951995>

Uijterschout, L., Domellöf, M., Berglund, S. K., Abbink, M., Vos, P., Rövekamp, L., Brus, F. (2015). Serum hepcidin in infants born after 32 to 37 weeks of gestational age. *Pediatric Research*. <http://doi.org/10.1038/pr.2015.258>

Uijterschout, L., Swinkels, D. W., Domellöf, M., Lagerqvist, C., Hudig, C., Tjalsma, H., Brus, F. (2014). Serum hepcidin measured by immunochemical and mass-spectrometric methods and their correlation with iron status indicators in healthy children aged 0.5-3 y. *Pediatric Research*, 76(4), 409–14. <http://doi.org/10.1038/pr.2014.109>

Verga, M.-E., Widmeier-Pasche, V., Beck-Popovic, M., Pauchard, J.-Y., & Gehri, M. (2014). Iron deficiency in infancy: is an immigrant more at risk? *Swiss Medical Weekly*, 144, w14065. <http://doi.org/10.4414/smw.2014.14065>

Walter, T., Olivares, M., Pizarro, F., & Muñoz, C. (1997). Iron, anemia, and infection. *Nutrition Reviews*, 55(4), 111–24.

Wessling-Resnick, M. (2010). Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annual Review of Nutrition*, 30, 105–22. <http://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104804>

(World Health Organization, UNICEF, USAID, AED, UCDAVIS, IFPRI. Indicators for assessing infant and young child feeding practices, Part 1: Definitions [monografía en Internet]. Ginebra: WHO, 2007 [acceso 17 de febrero de 2012]. <http://whqlibdoc.who.int/>

World Health Organization. Nutrition data banks, global data bank on breastfeeding [Internet]. Ginebra: WHO, 2009[. <http://www.who.int/nutrition/databases/infantfeeding/countries/esp.pdf>

Willson, D. F., Horn, S. D., Hendley, J. O., Smout, R., & Gassaway, J. (2001). Effect of practice variation on resource utilization in infants hospitalized for viral lower respiratory illness. *Pediatrics*, 108(4), 851–5.

Woldie, H., Kebede, Y., & Tariku, A. (2015). Factors Associated with Anemia among Children Aged 6-23 Months Attending Growth Monitoring at Tsitsika Health Center, Wag-Himra Zone, Northeast Ethiopia. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2015, 928632. <http://doi.org/10.1155/2015/928632>

- Yip, R., Binkin, N. J., Fleshood, L., & Trowbridge, F. L. (1987). Declining prevalence of anemia among low-income children in the United States. *JAMA*, *258*(12), 1619–23.
- Ziegler, E. E., Fomon, S. J., Nelson, S. E., Jeter, J. M., & Theuer, R. C. (2011). Dry cereals fortified with electrolytic iron or ferrous fumarate are equally effective in breast-fed infants. *The Journal of Nutrition*, *141*(2), 243–8. <http://doi.org/10.3945/jn.110.127266>
- Zlotkin, S., Newton, S., Aimone, A. M., Azindow, I., Amenga-Etego, S., Tchum, K., Owusu-Agyei, S. (2013). Effect of iron fortification on malaria incidence in infants and young children in Ghana: a randomized trial. *JAMA*, *310*(9), 938–47. <http://doi.org/10.1001/jama.2013.277129>
- Zoli, A., Altomonte, L., Mirone, L., Magaró, M., Ricerca, B. M., Storti, S., Bizzi, M. (1994). Serum transferrin receptors in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *53*(10), 699–701.

ANEXOS

ANEXO I. INFORMACIÓN PARA LOS PADRES Y HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Efecto del la suplementación con hierro sobre el sistema inmunitario y el desarrollo neuroconductual del niño

1. Información sobre el estudio	188
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
1.5.4 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
2. Información acerca de ventajas e inconvenientes o riesgos	191
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
3. Información de contacto	192
4. Consentimiento informado	193

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 ^a (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 RELACIONADOS CON EL EMBARAZO

A continuación le vamos a realizar algunas preguntas sobre su embarazo. Estos datos son muy necesarios para los investigadores y en ningún caso en los resultados aparecerá su nombre.

1. CONSUMO DE SUPLEMENTOS Y VITAMINAS / MINERALES

¿Ha tomado ...

ácido fólico antes de quedarse embarazada? Sí No

ácido fólico durante el embarazo? Sí No ¿Hasta qué mes?

¿Ha tomado ...

hierro durante su embarazo? Sí No ¿Cuántos meses?

¿Cuándo empezó a tomarlo?.....

¿Ha tomado ...

otro tipo de complemento (complejo vitamínico, IODUC...? Sí No

¿Cuál?..... ¿Cuántos meses?

2. CONSUMO DE TABACO, ALCOHOL y/u OTROS

TABACO

¿Fumaba antes de quedarse embarazada? Sí No

¿Cuántos cigarrillos al día?

¿Ha fumado durante su embarazo? Sí No

¿Cuántos cigarrillos al día en primer trimestre?

¿Cuántos cigarrillos al día en segundo trimestre?

¿Cuántos cigarrillos al día en tercer trimestre?

ALCOHOL

¿Consumía alcohol antes de quedarse embarazada?		Sí	No
¿Con qué frecuencia?	Nunca	Ocasionalmente	A diario
¿Ha consumido alcohol durante su embarazo?	Sí	No	
¿Con qué frecuencia?	Nunca	Ocasionalmente	A diario

3. OTROS DATOS DEL EMBARAZO:

TPAL: N° gestaciones a término: ___ prematuros: ___ abortos: ___

Patología: DM: si no HTA: si no

Procesos Febriles: si no Trimestre: 1er 2do 3ero

Serologías negativas: si no (HIV) (Toxoplasmosis) (Hepatitis) (Sífilis)

Cultivo Estreptococo grupo B: positivo negativo

Anemia: no si Tratamiento con Fe : no si dosis : _____

Tratamientos crónicos recibidos : _____

Otros tratamientos: AINES Antibióticos

Suplementos vitamínicos:

Homeopatía:

3. DATOS DEL PARTO:

Tipo parto: eutócico fórceps cesárea

APGAR:

Riesgo infección: si no

Peso placenta:

Complicaciones postparto:

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		

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:

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

ANEXO.V. REGISTRO DE INFECCIONES Y DIETÉTICO

Mes																
Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Fiebre (T>38°)																
Otitis																
Amigdalitis																
Bronquitis																
Neumonía																
Diarrea/gastroenteritis																
Infección de orina																
Muguet																
Ingreso hospitalario																
Antibiótico																
Vacunación																
Día	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	3
Fiebre (T>38°)																
Otitis																
Amigdalitis																
Bronquitis																
Neumonía																
Diarrea/gastroenteritis																
Infección de orina																
Muguet																
Ingreso hospitalario																
Antibiótico																
Vacunación																
OBSERVACIONES:																

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, pastas, etc.)							
FRUTA							
PAPELA DE VERDURA							
CARNE (Palo)							
CARNE (Terresa, conop 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:

- En caso de tomar lactancia artificial, indique a continuación la marca y el tipo de leche: _____
- Cuántas tomas diarias hace su bebé:
 Tomas Leche materna: _____
 Tomas Leche artificial: _____
- ¿Añade usted azúcar o miel al biberón? Marque la respuesta correcta:
 Sí, siempre Algunas veces No, nunca

2. CEREALES:

- Indique la marca y el tipo: _____
- Cuántas tomas diarias hace su bebé de cereales: _____
- ¿Añade usted azúcar o miel a los cereales? Marque la respuesta correcta:
 Sí, siempre Algunas veces No, nunca
- Cuántas tomas diarias hace su bebé de cereales: _____

3. CONSUMO DE FRUTA:

- En caso de que su hijo tome fruta, indique la manera que tiene su hijo de comérsela (puede marcar varias respuestas):
 Triturada (papilla) Zumos Entera No toma fruta
- 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
- 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
- Concretamente queremos saber si hay alguna comida **al día** en la que **consume fruta y no consume 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

ANEXO VI. Premios. Presentaciones y difusión

- Beca SAGESA 2006 para elaboración proyectos de doctorado.
- Beca de la Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergia pediátrica (SEI-CAP) 2008
- Presentación en el XLVII Curso de Avances en inmunología y Alergia Pediátrica en Barcelona. Abril de 2012.
- Presentación XXXVI congreso de La Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergia pediátrica en Cádiz. Mayo de 2012
- Premio mención especial mejor comunicación oral en el 64 Congreso Asociación Española Pediatría. Valencia Junio de 2016.
- Difusión. Entrevista en Gaceta Médica 2 Junio de 2016
“Las citocinas inflamatorias, asociadas a los niveles de hepcidina en lactantes”

