



UNIVERSITAT^{DE}
BARCELONA

Impacto de la utilización de leche humana de donante en los resultados hospitalarios de los recién nacidos muy prematuros

Sandra Salas Garcia



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 4.0. Spain License.**



IMPACTO DE LA UTILIZACIÓN DE LECHE HUMANA DE DONANTE EN LOS RESULTADOS HOSPITALARIOS DE LOS RECIÉN NACIDOS MUY PREMATUROS

Memoria de tesis doctoral presentada por **Sandra Salas Garcia** para optar al grado de doctora por la Universidad de Barcelona.

Dirigida por: Dra. Isabel Iglesias Platas. *Institut de Recerca Sant Joan de Déu* y de la Unidad de Neonatología del *Hospital Sant Joan de Déu* (Universitat de Barcelona y consorcio BCNatal) Barcelona, Cataluña, España; NICU, Norfolk and Norwich University Hospital, Reino Unido y Dra. Montserrat Izquierdo Renau. *Institut de Recerca Sant Joan de Déu* y de la Unidad de Neonatología del *Hospital Sant Joan de Déu* (Universitat de Barcelona y consorcio BCNatal) Barcelona, Cataluña, España.

Tutor: Dr. Martí Iriondo Sanz. Unidad de Neonatología. Hospital Sant Joan de Déu. Universitat de Barcelona, BCNatal. Barcelona, Cataluña, España.

Programa de Doctorado Medicina e Investigación Traslacional. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universitat de Barcelona.

SEPTIEMBRE 2023

AGRADECIMIENTOS

Aquesta tesi va dedicada a Pau perquè en primer lloc em va donar el temps i l'energia necessària per a escriure-la i després em va fer conèixer la cara més bonica de la lactància materna.

Gràcies a Hèctor per recolzar-me i animar-me a seguir amb aquest projecte, quan les meues prioritats havien canviat.

Gràcies als meus pares, sense ells no seria qui sóc. Gràcies a les meues germanes, són una part de mi.

Gràcies a tots els prematurs amb qui he coincidit en aquesta meravellosa professió, que han sigut la meua inspiració, i als meus companys de feina, amb qui compartisc les vivències dia a dia.

“La vida no es fácil para nadie. Pero ¡qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste.”

Marie Curie

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	15
1. NUTRICIÓN ENTERAL EN EL RECIÉN NACIDO MUY PREMATURO... 15	
1.1. LECHE MATERNA.....	16
1.2. LECHE HUMANA DE DONANTE.....	19
1.3. FORTIFICACIÓN.....	21
2. INFLUENCIA DEL TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL EN EL CRECIMIENTO DE LOS RECIÉN NACIDOS PREMATUROS.....	23
3. IMPACTO DE LA ALIMENTACIÓN CON LECHE HUMANA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL	25
4. TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL Y RELACIÓN CON LAS COMORBILIDADES DEL RECIÉN NACIDO MUY PREMATURO.....	27
4.1. TOLERANCIA DIGESTIVA	27
4.2. ENTEROCOLITIS NECROSANTE.....	28
4.4. DISPLASIA BRONCOPULMONAR.....	32
4.6. NEURODESARROLLO	39
4.7. EFECTOS CARDIOVASCULARES A LARGO PLAZO.....	40
5. INFLUENCIA DEL SEXO EN EL CURSO CLÍNICO, NUTRICIÓN Y CRECIMIENTO DE LOS RNMP.....	41
6. IMPACTO DE LA ENTRADA DE LA LECHE DE DONANTE EN LAS UNIDADES NEONATALES	43
6.1. BANCOS DE LECHE.....	43
6.2. POBLACIÓN DIANA DE LA LECHE DONADA.....	44
6.3. RELACIÓN COSTE-EFICACIA.....	45
6.4. GRADO DE ACEPTACIÓN	46
6.5. TASA DE LACTANCIA MATERNA AL ALTA.....	47
JUSTIFICACIÓN.....	48
HIPÓTESIS	49

OBJETIVOS.....	50
METODOLOGÍA.....	51
RESULTADOS	55
1. ANÁLISIS POR PERIODOS (ANTES Y DESPUÉS DE LA INTRODUCCIÓN DE LECHE HUMANA DE DONANTE EN LA UNIDAD).....	55
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	55
1.2. IMPLEMENTACIÓN DEL PROTOCOLO DE LD.....	58
1.3. SOPORTE NUTRICIONAL	59
1.4. CRECIMIENTO DURANTE EL INGRESO.....	62
1.5. DESENLACES CLÍNICOS	65
2. ANÁLISIS POR EXPOSICIÓN (SEGÚN EL PORCENTAJE DE LECHE HUMANA RECIBIDA).....	69
2.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	69
2.2. SOPORTE NUTRICIONAL	70
2.3. CRECIMIENTO DURANTE EL INGRESO.....	72
2.4. DESENLACES CLÍNICOS	76
DISCUSIÓN.....	78
1. REPERCUSIÓN EN LA NUTRICIÓN ENTERAL Y LAS TASAS DE LECHE DE PROPIA MADRE TRAS LA INTRODUCCIÓN DE LECHE DE DONANTE	78
2. INFLUENCIA DEL TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS DURANTE EL INGRESO	83
2.1. ENTEROCOLITIS NECROSANTE.....	83
2.2. SEPSIS TARDÍA	85
2.3. OTRAS COMORBILIDADES	87
2.4. INFLUENCIA DEL SEXO EN EL CURSO CLÍNICO	88
3. IMPACTO DEL TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL RECIBIDA EN EL CRECIMIENTO POSTNATAL PRECOZ	89
4. LIMITACIONES.....	96

CONCLUSIONES.....	98
REFERENCIAS	100
ANEXOS.....	121

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. Estrategias de fortificación de la leche materna.	22
Tabla 2. Clasificación de Bell para la enterocolitis necrosante.	29
Tabla 3. Factores implicados en la patogénesis de la enterocolitis necrosante.	29
Tabla 4. Factores de riesgo para sepsis tardía.	32
Tabla 5. Clasificación por grados de la displasia broncopulmonar	33
Tabla 6. Diferencias entre sexos en parámetros nutricionales en RNP.	43
Tabla 7. Composición de la leche humana	53
Tabla 8. Comparación de las características basales de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2.	56
Tabla 9. Comparación de las características basales de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2 por sexos.	57
Tabla 10. Pacientes que recibieron LD (de forma exclusiva o como suplemento de la leche de la propia madre en los puntos temporales señalados).	59
Tabla 11. Soporte nutricional promedio durante las dos primeras semanas.	61
Tabla 12. Parámetros de crecimiento de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2.	63
Tabla 13. Parámetros de crecimiento de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2 comparados por sexos.	64
Tabla 14. Modelo de regresión lineal de la caída de z score de peso a los 28 días de vida en los periodos 1 y 2.	64
Tabla 15. Comparación de las variables clínicas entre el periodo 1 y el periodo 2.	66
Tabla 16. Resultados del análisis de regresión logística binaria del riesgo de Enterocolitis necrosante.	67
Tabla 17. Comparación de las variables clínicas entre sexos en el periodo 1 y el periodo 2.	68
Tabla 18. Comparación de las características basales de los pacientes del grupo 1 y grupo 2.	70
Tabla 19. Características del soporte nutricional de ambos grupos. Ajustado por edad gestacional.	71
Tabla 20. Parámetros de crecimiento de los pacientes del grupo 1 y grupo 2.	72
Tabla 21. Influencia del porcentaje de LH recibida los primeras 28 días de vida en el crecimiento durante el ingreso tras ajustar por factores de confusión.	74
Tabla 22. Comparación de las variables clínicas entre el grupo 1 y el grupo 2. Ajustado por edad gestacional.	77

Tabla 23. Resumen de las características de los estudios incluidos en la revisión sistemática: Use of Donor Human Milk and Maternal Breastfeeding Rates: A Systematic Review..... 81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes inmunomoduladores de la leche materna.	31
Figura 2. Prevención primaria de la displasia broncopulmonar: ventana de oportunidad.	36
Figura 3. Mecanismo patogénico para la producción de retinopatía de la prematuridad.	38
Figura 4. Resumen de las secuelas cardiovasculares a largo plazo en el RNP.	40
Figura 5. Diagrama de flujo de los pacientes del primer análisis (análisis por periodos).	55
Figura 6. Resumen de las características nutricionales de los pacientes del periodo1 y el periodo 2.	60
Figura 7. Diagrama de flujo de los pacientes del segundo análisis (análisis por grupos de exposición).....	69
Figura 8. Evolución del z-score de peso durante el ingreso.	73
Figura 9. Caída de z-score de peso desde el nacimiento hasta las 36 semanas de edad posmenstrual y desde el nacimiento hasta el alta en los dos grupos.	73
Figura 10. Comparación del z-score de peso y perímetro cefálico al alta.....	75
Figura 11. Diferencia de z-score entre el perímetro cefálico y el peso al nacimiento y al alta.	76

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

EG: edad gestacional

RN: recién nacido

RNP: recién nacido prematuro

RNMP: recién nacido muy prematuro

NE: nutrición enteral

LM: leche materna

DM: diabetes mellitus

LH: leche humana

IMC: índice de masa corporal

EGF: factor de crecimiento epidérmico

IGF-1: factor de crecimiento similar a la insulina

HGF: factor de crecimiento del hepatocito

FCT- β : factor de crecimiento transformador beta

IL-6: interleuquina-6

IgA: inmunoglobulina A

ECN: enterocolitis necrosante

FA: fórmula artificial

LD: leche humana de donante

DBP: displasia broncopulmonar

ROP: retinopatía de la prematuridad

FP: fórmula para prematuros

RDA: cantidades dietéticas recomendadas

ESPGHAN: Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición

BUN: nitrógeno ureico en sangre

EMBA: Asociación Europea de Bancos de Leche

EPM: Edad posmenstrual

ICROP: Clasificación Internacional de la Retinopatía de la Prematuridad

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

FCP: fallo de crecimiento postnatal

DE: desviaciones estándar

CRIB: Clinical Risk Index For Babies

ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS

Esta tesis se presenta en formato monográfico clásico con un artículo publicado.

La tesis consta de cinco objetivos y un artículo (*).

(*) Cañizo Vázquez D, **Salas García S**, Izquierdo Renau M, Iglesias-Platas I. Availability of donor milk for very preterm infants decreased the risk of necrotizing enterocolitis without adversely impacting growth or rates of breastfeeding. *Nutrients* 2019; 11 (8). *Factor de impacto: 4,546 (JCR SCIE). Cuartil: 1.*

Las autoras Débora Cañizo Vázquez y Sandra Salas Garcia contribuyeron equitativamente en la elaboración y publicación del artículo y, por tanto, comparten coautoría. Además, la doctoranda es la autora de correspondencia.

INTRODUCCIÓN

1. NUTRICIÓN ENTERAL EN EL RECIÉN NACIDO MUY PREMATURO

La prematuridad supone la primera causa de mortalidad en el primer mes de vida y la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años, considerándose por la OMS un problema mundial de salud pública (1). En todo el mundo, 1 de cada 10 niños nacen de forma prematura (antes de las 37 semanas de edad gestacional (EG)) cada año, lo que da como resultado alrededor de 15 millones de nacimientos prematuros al año (2). Más de 1 millón de recién nacidos (RN) mueren cada año debido a complicaciones del parto prematuro y muchos supervivientes afrontan una discapacidad de por vida, como problemas de aprendizaje, visuales y/o auditivos (3).

El manejo clínico de los recién nacidos prematuros (RNP) ha mejorado drásticamente en las últimas décadas, y las tasas de supervivencia han aumentado, especialmente en los recién nacidos muy prematuros (RNMP) (< 32 semanas de EG), debido a las mejoras en la conducta obstétrica y la atención neonatal (4). Uno de los avances más importantes, que provocó una caída drástica de la mortalidad y morbilidad de los RNP, fue la introducción del surfactante a principios de 1990 (5). Otro de los determinantes principales de la supervivencia del RNP y de su evolución, así como de su salud posterior, es el soporte nutricional. Los RNMP tienen un alto riesgo nutricional debido a sus escasas reservas y a los elevados requerimientos en la vida extrauterina (4). El resultado es un déficit de energía y proteínas en el periodo neonatal precoz en estos pacientes, que se ve muy influenciado por el tipo de nutrición recibida tras el nacimiento (6). Muchos RNMP presentan restricción de crecimiento extrauterina que puede persistir los primeros años de vida y tener consecuencias negativas a nivel metabólico y del neurodesarrollo futuro (7,8).

Durante los primeros días de vida del RNMP, la inmadurez del tracto gastrointestinal y, a veces, la gravedad clínica, impiden el inicio de la nutrición enteral (NE), por lo que el manejo nutricional se basa inicialmente en el uso de la vía parenteral (9). A pesar de ello, se ha visto que es importante alcanzar la alimentación enteral completa en el menor tiempo posible, ya que disminuye algunas de las complicaciones durante el ingreso y los días de hospitalización (10,11). Respecto al tipo de NE, la leche materna (LM) es el

alimento de elección (12,13), dado que las ventajas nutricionales y no nutricionales son muy numerosas como mostraremos a continuación.

1.1. LECHE MATERNA

La LM está diseñada para satisfacer las necesidades nutricionales del RN y, por ello, es el alimento de elección (14,15). Además de las propiedades nutricionales, este fluido dinámico y bioactivo ejerce protección y efectos biológicos de por vida, y juega un papel crucial en la promoción de un crecimiento saludable y un desarrollo cognitivo óptimo (16). Se ha visto que los niños amamantados tienen una menor mortalidad y morbilidad de causa infecciosa (gastroenteritis aguda, infecciones respiratorias y otitis media), menor incidencia de maloclusión dental y un mayor cociente intelectual (17). También se ha demostrado protección frente a alergias, mejora de la función visual y mejora del vínculo emocional, así como beneficios importantes en la salud física y mental de la madre (15). Estos beneficios son mayores cuánto más prolongada en el tiempo sea la lactancia, cuando se mantiene durante más de 3 meses se ha visto un descenso en la aparición posterior de entidades como la otitis media, asma, dermatitis atópica, diabetes mellitus (DM) tipo 1 y tipo 2, enfermedad celiaca, gastroenteritis y muerte súbita del lactante (18).

Los últimos avances científicos han proporcionado información sobre los diferentes componentes de la LM y sus cambios dinámicos y flexibles a lo largo del tiempo en respuesta a varios desencadenantes biológicos y ambientales (16). Distintos factores influyen en la composición de la leche humana (LH): tiempo de lactancia, hora del día, semanas de gestación, enfermedades maternas, genética, dieta, índice de masa corporal (IMC) y factores ambientales (19). Así pues, la composición de la leche va cambiando a lo largo del tiempo, la cantidad de proteínas disminuye del segundo al sexto mes para estabilizarse posteriormente, el contenido de lactosa es muy elevado entre el cuarto y séptimo mes, decreciendo con el paso del tiempo a la vez que el contenido de grasa aumenta progresivamente (16). A lo largo de la toma también cambia su composición, siendo el contenido de grasas mayor al final de esta. La dieta materna se ha visto que influye en el contenido de grasas pero afecta en menor medida al contenido de proteínas y carbohidratos (16).

Los oligosacáridos representan el 4º componente más abundante en la LM, después del agua, los lípidos y la lactosa (20). Se postula que esta familia de más de 160 compuestos

desempeña un papel importante en la protección de los RN contra las infecciones, actuando como falsos receptores para las bacterias y modulando la microbiota intestinal (21). Además, los oligosacáridos pueden actuar como una fuente dietética de ácido siálico, potencialmente importante para el aprendizaje y la memoria (22).

Respecto a otros componentes bioactivos, presentes en mayor cantidad en la LM de prematuro (23), los más importantes son los antioxidantes, los factores de crecimiento, las adipoquinas, las citoquinas, las células madre, los leucocitos y la microbiota, todos ellos con un papel protector y regulador crucial (24). También encontramos agentes antimicrobianos como la lactoferrina con un amplio espectro antibacteriano, antivírico y antifúngico (25).

Los agentes antioxidantes presentes en la LM, entre los que destacan los polifenoles, vitaminas, carotenoides y la melatonina entre otros, podrían tener un papel importante en el control del estrés oxidativo del RN (26).

Se ha demostrado en estudios experimentales realizados en LH y líquido amniótico (27), que los factores de crecimiento (factor del crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), factor de crecimiento del hepatocito (HGF)...) juegan un papel muy importante en el crecimiento, maduración e integridad de diferentes órganos, especialmente del tracto digestivo (24,28,29). Ayudan con la maduración de la inmunidad intestinal promoviendo la proliferación y diferenciación de las células inmaduras (27). La mayor concentración de factores de crecimiento se encuentra en el calostro (30).

Las adipoquinas constituyen otro grupo de componentes activos presentes en la LM, siendo importantes en el metabolismo y crecimiento (24). Estas citoquinas derivadas de adipocitos tienen la capacidad de modificar la ganancia ponderal así como la composición corporal de los RN en el periodo neonatal precoz, demostrándose también efectos a largo plazo en la programación metabólica (31). Las adipoquinas, entre las que se encuentran la leptina, adiponectina, resistina o ghrelina, están involucradas en la regulación de las entradas y el balance energético del cuerpo humano (32), por lo que tienen una fuerte influencia en la vida adulta en el desarrollo de enfermedades como la obesidad, DM tipo 2 o resistencia a la insulina (24).

En la LM encontramos también citoquinas tanto antiinflamatorias (interleuquina-7, interleuquina-10 y factor de crecimiento transformador beta (FCT-β)) (24) como, en menor cantidad, proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa, interferón gamma, interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-8...). Las citoquinas en parte podrían compensar el menor desarrollo inmunológico del RN ya que son importantes mediadoras del sistema inmune (33). FCT- β regula la producción de inmunoglobulina A (IgA) (30) y la IL-6 su diferenciación. La IgA confiere protección inmune al RN, actúa uniéndose directamente a los antígenos microbianos, bloqueando la adhesión, mejorando la fagocitosis, modulando la función inmune local y favoreciendo la colonización microbiana normal del intestino (34).

Datos recientes sugieren que hasta el 6% de las células de la LH son células madre (24). Estas células son potencialmente reprogramables para múltiples tipos de tejidos, por lo que es posible que contribuyan a la reparación del tejido intestinal y al desarrollo inmunológico y protección contra enfermedades infecciosas (35). Otro grupo celular presente en altas concentraciones en el calostro materno son los leucocitos, un RN amamantado recibe hasta 1010 leucocitos maternos por día, aunque el papel de estas células aún no está del todo claro (24).

En cuanto a la microbiota, es bien sabido su papel en la maduración metabólica e inmunológica (24). Su desarrollo empieza al nacimiento y los cambios más importantes ocurren el primer año de vida, especialmente en función del tipo de alimentación recibida (36). La LM no es un alimento estéril y varios trabajos confirman más de 100 tipos de bacterias/ml de leche (37). La asociación entre la microbiota y varios trastornos, como dolor visceral, trastorno del espectro autista, riesgo cardiovascular, obesidad, depresión o esclerosis múltiple, ha sido bien demostrada (38).

La leche producida por madres de prematuros contiene más cantidad de lípidos, proteínas y calorías (23) y, por lo tanto, se adapta mejor a las necesidades nutricionales que tienen los RNP para un correcto crecimiento y desarrollo neurológico (39). Los oligosacáridos y el ácido siálico son de especial importancia en este grupo de RNs, donde se han relacionado con la prevención de la disfunción intestinal y de la enterocolitis necrosante (ECN) (20). Además, también se han demostrado en la LM de prematuro (23) niveles más elevados de las moléculas bioactivas descritas, con su potencial papel protector y regulador (24). En cuanto a los agentes antioxidantes, son especialmente importantes en

el RNP, dónde se ha visto que el parto prematuro interfiere en el desarrollo normal de la cascada antioxidante incrementando el estrés oxidativo (40), lo que dificulta la transición a la vida extrauterina y exacerba las morbilidades perinatales (41). Hay evidencia de que los prematuros alimentados con LM tienen menos elevados los biomarcadores de estrés oxidativo que los alimentados con fórmula artificial (FA) (42). Por otra parte, la LM es considerada el mejor probiótico para los RN (38), y alteraciones en la microbiota de los RNP se han asociado con una mayor predisposición a desarrollar ECN (24,43,44). La lactoferrina juega un papel muy importante en la LM de RNP, por su amplio espectro antibacteriano, antivírico y antifúngico (25). Además, se han observado unos niveles de IgA mayores en el calostro de RNP que en el de RNs a término (30,34), todo ello confiere una protección clave frente a las infecciones y la ECN.

Por todo lo expuesto la LM es el alimento de elección para los RNP y de bajo peso. Sin embargo, la complejidad de la composición de la LH y los mecanismos sinérgicos responsables de sus efectos beneficiosos para la salud aún no se han descifrado totalmente (24).

1.2. LECHE HUMANA DE DONANTE

Conseguir una adecuada producción de leche después de un parto prematuro puede ser complicado. Las primeras 2 semanas tras el parto se consideran un periodo crítico para el establecimiento de una correcta lactancia materna (18). Se ha visto que las madres de RNP tienen un retraso de la lactogénesis respecto a las madres de RNs a término, no llegando en ocasiones a obtener la producción láctea necesaria para cubrir las necesidades del RNP (45). Esto se debe a varios factores, entre los que destacan el estrés que supone la separación del binomio madre-hijo por la hospitalización del neonato, la necesidad de utilizar un sacaleches y, en ocasiones, la presencia de patología materna (46).

Las sociedades científicas internacionales recomiendan la leche humana de donante (LD) como primera alternativa cuando la LM no es suficiente para cubrir las necesidades del RNP (47). La NE con LD cuando la LM no está disponible o es insuficiente se ha asociado con una mejoría de la morbilidad y un descenso en la mortalidad en los RNMP (13,48,49). El principal beneficio para la salud de la administración de LD a RNP es su efecto protector contra la ECN, como se ha demostrado en varias revisiones sistemáticas (12,13,47,48). Otros estudios sugieren también un efecto protector frente a la displasia

broncopulmonar (DBP) (50), la sepsis tardía y la retinopatía de la prematuridad (ROP) (13), así como beneficios cardiovasculares a largo plazo con el uso de LD versus FA en estos casos (38).

A pesar de los múltiples beneficios se ha visto que la LD no es comparable a la LM. Muchos trabajos no observan reducción de los días de nutrición parenteral ni, por tanto, reducción de sepsis tardía (51); tampoco son concluyentes los resultados de los diferentes estudios respecto a reducción de otras comorbilidades asociadas a la prematuridad (52). Por otra parte, como se menciona después, diferentes estudios muestran que el crecimiento de los prematuros alimentados con LD es más lento comparado con los alimentados con fórmula para prematuros (FP) (12,53,54).

Los motivos de parte de estas diferencias podrían residir en los tratamientos aplicados a la LD. Para inactivar posibles contaminantes víricos y bacterianos y así disminuir el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, la LD se pasteuriza (18). Como efecto secundario, la pasteurización produce una destrucción de la microbiota y de algunos macronutrientes, disminuyendo la cantidad de grasas y energía (18). También se da un cierto grado de inactivación de factores inmunológicos y antiinfecciosos, como las IgA, que se reducen en un 20-30% (55). Además, se producen pérdidas considerables en la concentración y la actividad de lactoferrina, lisozimas y linfocitos, entre otros, como consecuencia del tratamiento térmico. Así mismo, la capacidad antioxidante de la LM y la actividad de la lipasa, las IgM y las concentraciones de leucocitos se reducen notablemente a través de la pasteurización (56). Sin embargo, otros componentes bioactivos y nutrientes de la LH, como los oligosacáridos, la lactosa, la glucosa, los factores de crecimiento, las vitaminas, y algunas citoquinas se conservan (57). Por otra parte, la conservación en frío de la LH también altera la composición nutricional e inmunológica. Por ejemplo, el almacenamiento a 4°C durante 24 horas provoca una pérdida pronunciada de vitamina C, algunas enzimas (lipasa, lactoferrina, lisozima) y factores inmunitarios (IgA y actividad fagocítica) (47).

A pesar de que la LD ha supuesto un gran avance en el soporte nutricional de los RNP en las unidades neonatales, no ha demostrado equivalencia respecto a la leche de la propia madre. Por ello, es importante promover la lactancia materna mediante estrategias que

faciliten a las madres de los RNP la correcta instauración y mantenimiento de una lactancia satisfactoria.

1.3. FORTIFICACIÓN

A pesar de todos los beneficios nombrados de la LM, y en su defecto de la LD, esta no acaba de cubrir el elevado requerimiento nutricional de los RNMP a los volúmenes habituales (58). Si comparamos el contenido de nutrientes de la LM y las cantidades dietéticas recomendadas (RDA) para los RNP según la Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición (ESPGHAN) objetivamos que las necesidades de nutrientes de los RNP no se pueden alcanzar con la alimentación exclusiva con LM (59). Para optimizar los aportes nutricionales en este grupo de población con la finalidad de mejorar su crecimiento y desarrollo, se han diseñado fortificantes para la LH que aportan energía, proteínas, minerales y vitaminas, convirtiéndose en una práctica habitual en el soporte nutricional precoz de este grupo de pacientes (60). La mayoría son preparados multicomponentes derivados de leche bovina, aunque también se han comercializado fortificantes fabricados a partir de LH (61). Se han descrito algunos beneficios con el empleo de fortificantes derivados de LH como una mejor tolerancia digestiva y una menor incidencia de ECN (62), aunque la evidencia es controvertida y los metaanálisis publicados al respecto apuntan a la escasez de ensayos clínicos con evidencia suficiente como para probar estos efectos descritos (61,62).

Algunos estudios que comparan el manejo nutricional en los RNMP alimentados con LH fortificada muestran una mejor evolución de parámetros antropométricos, mejores resultados de balance nitrogenado y cifras de nitrógeno ureico en sangre (BUN), albúmina sérica, proteínas totales y prealbúmina, y normalización de los índices bioquímicos del estado mineral óseo (61,63). Sin embargo, una revisión reciente únicamente encuentra diferencias antropométricas durante el ingreso hospitalario, pero no otros beneficios, complicaciones o efectos secundarios relevantes (63). Además, la fortificación de la LH no está exenta de inconvenientes, ya que la manipulación de la leche disminuye la absorción de grasas y aumenta la osmolaridad, aunque varios estudios han demostrado que el aumento de osmolaridad con la dosis de fortificante recomendada es segura (64).

Es una práctica habitual en las unidades de Neonatología el uso de estos preparados, bien con una estrategia estándar o una individualizada, que ajusta los fortificantes en función

del análisis de la leche o de la determinación del BUN. En la siguiente tabla, adaptada de las recomendaciones de la Asociación Europea de Bancos de Leche (EMBA) (61), se describen los tres métodos, así como sus principales ventajas y desventajas en la práctica diaria, aunque queda pendiente de investigar el impacto a largo plazo de cada una de las estrategias.

Tabla 1. Estrategias de fortificación de la leche materna.

ESTRATEGIA	METODOLOGIA	VENTAJAS/ INCONVENIENTES
1. Fortificación estándar	Es el método más utilizado Se añade una cantidad fija de fortificante a un volumen determinado de LM (según instrucciones del fabricante)	Práctica Puede no responder a las necesidades reales de nutrientes de un RNMP particular No suele garantizar la ingesta suficiente de proteínas Muchos RNMP continúan teniendo un crecimiento subóptimo
2. Fortificación ajustada	Se monitoriza el metabolismo proteico mediante el BUN. Si BUN<10 mg/dl se añade suplemento proteico a la fortificación estándar	Práctica, fácil de realizar, no necesita analizadores de composición de la leche Ajusta el aporte proteico del RNMP tanto por defecto como por exceso Parece mejorar el crecimiento del RNMP durante el ingreso Necesita extracciones sanguíneas
3. Fortificación personalizada	Se miden las concentraciones de macronutrientes en la LM y se suplementa con proteínas y/o grasas en función de los resultados	Se pueden suplementar los macronutrientes específicos que están por debajo de los requerimientos Conllevan más trabajo, se precisan analizadores de LM La suplementación se realiza de acuerdo con las recomendaciones de la población, sin tener en cuenta que las necesidades de cada RN individual pueden ser diferentes

Fuente: Tabla adaptada de la EMBA (61).

Abreviaturas: LM: Lactancia materna, RNMP: recién nacido muy prematuro, BUN: nitrógeno ureico en sangre

2. INFLUENCIA DEL TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL EN EL CRECIMIENTO DE LOS RECIÉN NACIDOS PREMATUROS

Las recomendaciones actuales de NE y parenteral se basan en aportar los nutrientes suficientes para que el RNP tenga un crecimiento similar al de un feto de su misma EG (65). El nacimiento prematuro provoca un cese brusco del aporte de nutrientes por parte de la placenta, en un momento en el que el requerimiento energético y, sobre todo, de proteínas es muy elevado provocando de forma frecuente un balance nitrogenado negativo (2). La restricción del crecimiento posnatal sigue siendo uno de los problemas más comunes de los RNMP (66). Una entrega subóptima de nutrientes causa déficits de forma temprana, lo que conduce a un crecimiento posnatal deficiente, especialmente en los pacientes más graves (67). Durante los primeros días o semanas de vida, la inmadurez del tracto gastrointestinal y, a veces, la gravedad, impiden el inicio de la NE para alcanzar los objetivos nutricionales deseados, por lo que el manejo se basa inicialmente en el uso de la vía intravenosa (9). La administración de nutrición parenteral precoz optimizada ha demostrado ser segura y mejorar de forma significativa el crecimiento de los RNMP (68).

Dado que los RNMP pueden no tolerar la alimentación enteral los primeros días de vida, ha sido práctica habitual durante años no iniciar la NE en la primera semana de vida. Sin embargo, actualmente se sabe que es importante alcanzar la alimentación enteral completa en el menor tiempo posible: la nutrición parenteral prolongada se asocia a complicaciones hepáticas y metabólicas *per se*, o por la necesidad de vía central para su administración, como la sepsis, y el ayuno provoca un efecto deletéreo sobre la mucosa intestinal (11). La administración de pequeñas cantidades de LH (de 5 a 20 mL/kg/día) desde el primer día y el aumento diario de 20-30mL/kg/día han demostrado que no incrementan el riesgo de ECN y acortan el tiempo en que se alcanza la alimentación enteral completa, disminuyendo la tasa de sepsis nosocomial y los días de hospitalización (10,11,69,70).

Para obtener un crecimiento similar al fetal se precisan aportes de al menos 180 mL/kg/día de LH suplementada con fortificantes (61). No todos los RNMP toleran estos volúmenes en las primeras semanas, especialmente los afectados por una DBP y esto constituye un factor de riesgo de desnutrición (61). Aunque se considera en la práctica habitual que es muy importante monitorizar el crecimiento, no está definido el estándar ideal de cómo

realizarlo para los pretérminos (71). A pesar de las discrepancias, parece que la forma más aceptada y que parece relacionarse más con la evolución a largo plazo es la diferencia de z-score entre dos puntos, que además reduce el impacto del crecimiento prenatal en la valoración (72).

La desnutrición fetal y probablemente la neonatal pueden desencadenar mecanismos adaptativos, como la resistencia a la insulina, que perpetuados en edades posteriores pueden conducir a mayor riesgo cardiovascular y menor esperanza de vida (73). Tampoco se sabe el tiempo óptimo para lograr el alcance de los valores normales de peso y longitud, que se retrasan en las primeras semanas. Se ha encontrado una posible relación entre desnutrición más grave y peor neurodesarrollo (7), pero por otro lado, el alcance rápido no mejora el neurodesarrollo y puede afectar el riesgo cardiovascular en la edad adulta (8).

A pesar de que está demostrado que los RNP alimentados con LH presentan una mejor tolerancia, absorción y biodisponibilidad, los que reciben FP presentan mejor ganancia de peso y crecimiento lineal debido a la gran cantidad de nutrientes con las que están enriquecidas las FP, que tienen mayor concentración de energía, proteínas y minerales que la LH (12). La LH sólo aporta el 60% de los requerimientos proteicos cuando se da en la cantidad necesaria para alcanzar el requerimiento calórico en RNP (74). Un metaanálisis que incluye once ensayos clínicos y 1809 pacientes concluye que los RNP alimentados con FA presentan un crecimiento más rápido (peso, longitud y perímetro craneal) que los alimentados con LD, de forma exclusiva o como suplemento de la LM, pero sin diferencias en el crecimiento a largo plazo ni en el neurodesarrollo (12). Según la mayoría de los estudios incluidos en una revisión sistemática reciente dónde se evalúa el crecimiento desde el nacimiento hasta el alta o la edad posmenstrual (EPM) de a término, la alimentación con LH parece estar asociada con un crecimiento subóptimo, con una relación inversa entre el crecimiento y la cantidad de LH consumida (53), esto parece ser más pronunciado con el uso de LD, de forma exclusiva o como suplemento de la LM, sobre todo si no se fortifica (12,54). Esto podría ser explicado por dos razones: el contenido nutricional y los tratamientos a los que se somete. En primer lugar, la LD la suelen proporcionar madres lactantes sanas con excedente de leche tras un parto a término y cuando ha pasado más de un mes del nacimiento. Por un lado, la composición será la adecuada para un RN a término, pero al no provenir de madres de prematuros, no cubrirá

las necesidades particulares del RNP; por otro, cómo hemos visto, la composición de la leche también van cambiando con el paso del tiempo (16,24). En segundo lugar, como ya hemos adelantado, la pasteurización provoca la destrucción de algunos macronutrientes, disminuyendo la cantidad de grasas y energía (18).

3. IMPACTO DE LA ALIMENTACIÓN CON LECHE HUMANA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL

Los RNP completan su desarrollo estando expuestos a factores ambientales no fisiológicos, incluida la hospitalización en la unidad de cuidados intensivos y las diferentes comorbilidades que sufren durante su ingreso. Como consecuencia, su organismo en desarrollo adapta las vías metabólicas y homeostáticas al entorno extrauterino, lo que se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar problemas de salud en el futuro como el síndrome metabólico y problemas en el neurodesarrollo (75). La evidencia más reciente destaca que la nutrición, el desarrollo de la composición corporal y el crecimiento posnatal temprano pueden desempeñar un papel importante en la programación de estos procesos (53,73,76). La composición corporal es un factor determinante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares en la edad adulta (8,77), incluyendo disminución de la sensibilidad a la insulina, un mayor riesgo de DM y un aumento de la tensión arterial (77). En un estudio realizado en India, se objetivó una relación entre el déficit de masa magra en el periodo neonatal con mayor adiposidad y aumento del riesgo de DM tipo 2 en la edad adulta (78).

La evaluación de la composición corporal en RNP es todo un reto, ya que la mayoría de métodos utilizados para investigación son difíciles de implementar en la práctica clínica (79), siendo el patrón oro la pletismografía por desplazamiento de aire. Las opciones alternativas que se suelen utilizar para hacer una aproximación de la composición corporal son la medida de pliegues cutáneos o los índices antropométricos (la relación peso/talla, el IMC o el índice ponderal) (79,80). Villar y colaboradores en un trabajo publicado en 2017 (81) trataron de describir la diferente composición corporal de los RN en función del sexo, EG y antropometría al nacimiento y evaluaron diferentes índices antropométricos para clarificar cual predecía mejor la masa grasa y masa magra (evaluada por pletismografía de desplazamiento de aire). Como resultados encontraron diferencias en la composición corporal entre sexo masculino y femenino: las niñas tenían mayor

porcentaje de grasa corporal y mayor relación masa grasa/masa magra que los niños; aunque no había diferencias en el valor absoluto de grasa corporal total entre sexos. La masa magra aumentaba con la EG, sugiriendo que el aumento de peso al final de la gestación es debido, mayoritariamente, al aumento de masa magra, en ambos sexos. Los RNP incluidos (la mayoría > 34 semanas de EG) tenían menos masa grasa, masa magra, porcentaje de grasa corporal y relación masa grasa/masa magra que los RN a término y, por último, vieron que los RN pequeños para la EG tenían un 27% menos de masa grasa y un 73% menos de masa magra. Además, concluyeron que la relación peso/talla refleja mejor la cantidad de masa grasa y masa magra que el IMC y el índice ponderal, siendo la masa magra la que mejor correlación tiene con la relación peso/talla al nacimiento (R^2 0.92) (81). Pasadas las primeras semanas o meses de vida, una vez empieza el depósito postnatal de masa grasa, los cambios en la relación peso/talla y el IMC reflejan un aumento de la adiposidad, al menos en RNT (82).

En el RN a término, un aumento del porcentaje de grasa corporal y una disminución de masa magra parecen condicionar un riesgo aumentado de DM tipo 2 en la edad adulta (78). La mayoría de estudios a este respecto muestran una composición corporal diferente entre los RNP cuando alcanzan la EPM equivalente al término y la de los RN a término (80), con una mayor cantidad de grasa corporal total y un porcentaje de masa magra menor en los RNMP a las 40 semanas de EPM que en los RN a término (80,81,83). Se ha descrito además una persistencia de este patrón durante la infancia (69).

La relación entre el tipo de alimentación y la composición corporal es objeto de controversia (53,81,84). En una revisión sistemática reciente publicada en 2020 que incluye 10 estudios, los autores encontraron que, aunque los RNs alimentados con LH crecen de forma más lenta, lo hacen con una mayor masa magra, lo que, en última instancia, puede conducir a mejores resultados metabólicos y del desarrollo neurológico (53). Hay mucha evidencia científica en RN a término acerca del efecto protector de la LM frente a obesidad en el futuro (84), pero existe una falta de estudios que evalúen la relación a largo plazo del tipo de alimentación en edades tempranas y su asociación con obesidad en RNP.

4. TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL Y RELACIÓN CON LAS COMORBILIDADES DEL RECIÉN NACIDO MUY PREMATURO

La LM ha demostrado disminuir la mortalidad y morbilidad de los RNP. Se ha demostrado su efecto protector frente a la ECN, la sepsis y las alteraciones en el neurodesarrollo (13). Sin embargo, la evidencia científica es controvertida respecto a la protección frente a otras enfermedades relacionadas con la prematuridad como la ROP o la DBP. Por otra parte, no está claro si los beneficios de la LH pasteurizada son similares a los de la LM. La pasteurización altera algunos componentes biológicamente activos como son la IgA, lisozimas, lactoferrina, linfocitos, lipasa, fosfatasa alcalina, citoquinas y algunos factores de crecimiento (57). Diversas publicaciones centradas en el uso exclusivo de LH demuestran un efecto protector frente a la ECN (13,85) y una mejor tolerancia alimentaria cuando se compara con FA (48,49) y revisiones sistemáticas recientes muestran también una disminución de la DBP (50) y la sepsis tardía (13). Otros estudios sugieren también beneficios cardiovasculares a largo plazo con el uso de LD (86,87).

4.1. TOLERANCIA DIGESTIVA

El término “intolerancia digestiva”, para la mayoría de los clínicos, hace referencia a la combinación de una serie de síntomas y signos clínicos que ponen de manifiesto la incapacidad del sujeto para asimilar la NE. Sin embargo, en la práctica diaria, “interpretar” este concepto no resulta tan sencillo. Moore y Wilson (88), en un intento de dar respuesta a esta cuestión, realizaron un análisis de todas las definiciones recogidas en los diccionarios, textos médicos y bases de datos biomédicas, interpretando finalmente como la más adecuada “la incapacidad de digerir la alimentación enteral, presentando un volumen residual gástrico mayor del 50%, distensión abdominal, emesis o ambos”. Sin embargo, ninguno de estos signos nos permite diferenciar si son el reflejo de una condición benigna fruto de la inmadurez de las funciones gastrointestinales o por el contrario son signos sutiles del inicio de una inminente ECN. Como consecuencia, la interpretación de las señales de intolerancia digestiva representa una de las variables más difíciles de definir, controlar y cuantificar a la hora de establecer la estrategia nutricional de estos niños.

La mayoría de estudios demuestran que los RNP alimentados con LH presentan una mejor tolerancia digestiva que los alimentados con FP, permitiendo así reducir los días en alcanzar la NE total (49,89,90). Esto es de vital importancia ya que permite reducir los días de nutrición parenteral y de catéter central, y por tanto, sus complicaciones (91). Además, el retraso en el inicio de la NE se ha asociado con el aumento de sepsis tardía y ECN (92–94). Una encuesta internacional publicada en 2012 mostraba que cuando las unidades disponían de LD el inicio de la NE era más precoz y el incremento más rápido, en el estudio se observaba que las unidades con disponibilidad de LD iniciaban la NE el primer día de vida mientras que las que no disponían de ello retrasaban el inicio de la NE hasta tener LM (91).

4.2. ENTEROCOLITIS NECROSANTE

La ECN es la causa más frecuente de enfermedad gastrointestinal adquirida y de emergencia quirúrgica en el neonato, y afecta predominantemente a RNP con muy bajo peso al nacer (95). Se caracteriza por la aparición de lesión inflamatoria intestinal, de mayor o menor extensión, que evoluciona a áreas de necrosis en cualquier parte del intestino, siendo la más frecuente el íleon terminal y el colon ascendente. Es una enfermedad devastadora en las unidades neonatales con una morbimortalidad que continúa siendo alta a pesar de los avances en el tratamiento del cuidado intensivo del RNP. Se estima una tasa de mortalidad entre el 15 y el 50% (96), necesidad de tratamiento quirúrgico entre el 25-40% de los casos según la literatura (97,98), estancias hospitalarias largas entre los supervivientes y un alto porcentaje de complicaciones a largo plazo como intestino corto, desnutrición y alteración del neurodesarrollo (96,99,100). Además, se han descrito unos costes hospitalarios relacionados con el tratamiento médico y quirúrgico de la ECN que oscilan entre 74.000 y 400.000 \$ por RN, respectivamente (98).

Para la estadificación de la enfermedad, se utiliza el sistema de clasificación de Bell (101), modificado por Walsh y Kilegman (102) (*Tabla 2*). Los estadios I consisten en clínica de sospecha con datos radiológicos inespecíficos, por lo que existe desacuerdo entre los expertos si el estadio I es realmente una ECN o una situación de íleo paralítico/intolerancia inespecífica del pretérmino. Por ello, en los estudios científicos se incluyen generalmente, las ECN a partir del estadio II.

Tabla 2. Clasificación de Bell para la enterocolitis necrosante.

ESTADIO	SIGNOS SISTÉMICOS	SIGNOS INTESTINALES	SIGNOS RADIOLÓGICOS
Ia Sospecha	Termolabilidad, apnea, bradicardia y letargia	Distensión abdominal, aumento restos gástricos, sangre oculta en heces	Normal o dilatación de asas, íleo leve
Ib Sospecha	Ídem Ia	Ídem Ia + sangre macroscópica en heces	Ídem Ia
Ia Confirmada	Ídem Ia	Ídem Ib + ausencia ruidos intestinales	Ídem Ia + neumatosis intestinal
Ib Confirmada	Acidosis y trombocitopenia	Ídem Ia + abdomen tenso y doloroso, con o sin celulitis abdominal o masa en cuadrante inferior derecho	Ídem Ia + gas en vena porta
IIIa Confirmada	Ídem Ib + hipotensión, bradicardia, apnea grave, acidosis mixta, CID y neutropenia	Ídem Ib + signos de peritonitis generalizada	Ídem Ib + ascitis franca
IIIb Confirmada	Ídem IIIa	Ídem IIIa	Ídem IIIa + neumoperitoneo

Fuente: clasificación de Bell modificada por Walsh y Kilegman (102).

La patogénesis de la ECN es multifactorial y sigue sin estar claramente definida, lo que hace muy difícil su prevención (103). En la *tabla 3* se muestran factores implicados en su patogénesis (104).

Tabla 3. Factores implicados en la patogénesis de la enterocolitis necrosante.

FACTORES IMPLICADOS EN LA ENTEROCOLITIS NECROSANTE

<p><i>Prematuridad</i></p> <p><i>Inmadurez de la barrera intestinal</i></p> <p><i>Colonización bacteriana anormal</i></p> <p><i>Alimentación enteral</i></p> <p><i>Elevada inmunorreactividad de la barrera intestinal</i></p> <p><i>Alteraciones del tono microvascular intestinal</i></p> <p><i>Medicaciones que causan lesión de la mucosa intestinal o favorecen el sobrecrecimiento bacteriano</i></p> <p><i>Predisposición genética</i></p> <p><i>Antibióticos de amplio espectro previos (alteración de la microbiota)</i></p>

Fuente: Caplan MS (104).

El factor de riesgo más importante para el desarrollo de ECN es la inmadurez del tracto gastrointestinal de los RNP (105). La defensa gastrointestinal del huésped (barrera física y la inmunológica (linfocitos intraepiteliales e IgA secretoria) están alteradas. La

permeabilidad de la mucosa del intestino es alta en comparación con la del RN a término; la capa de mucina en la mucosa es muy delgada, lo que puede aumentar la adherencia bacteriana e incrementar la permeabilidad de la mucosa; esto predispone al daño intestinal y desarrollo de ECN. La estrecha unión entre las células epiteliales del tracto gastrointestinal sirve como barrera protectora, por lo que cualquier alteración o disrupción de esta barrera aumenta la permeabilidad intestinal a los componentes de la alimentación enteral y a la microbiota (99). Además, el intestino prematuro presenta una motilidad disminuida, lo que incrementa el tiempo de exposición a determinadas noxas intraluminales. La respuesta inflamatoria de la mucosa ante una agresión bacteriana es desproporcionada y excesiva, provocando un mayor riesgo de necrosis intestinal (17).

Cada vez existe más evidencia que sugiere que la microbiota intestinal contribuye al inicio de la necrosis intestinal. Muchos factores pueden contribuir a la alteración de la microbiota que se observa en los RNP y uno de ellos es la NE. Más del 90% de los casos descritos de ECN ocurren después de haber iniciado la NE (103). Los mecanismos propuestos por los cuales la alimentación incrementa el riesgo de ECN incluyen: 1) alteración de la microbiota, 2) alteración en el flujo intestinal, 3) estrés hiperosmolar, 4) mala digestión de la proteína o lactosa de la leche, y 5) activación de la respuesta inflamatoria (104). Por otra parte, se han descrito mecanismos mediante los cuales la alimentación ayuda a proteger contra la ECN, como 1) la provisión de factores bioactivos de la LM (p. ej. leucocitos, inmunoglobulinas, ácidos grasos poliinsaturados, lactoferrina, prebióticos etc.), 2) prevención de la atrofia y apoptosis de las vellosidades, 3) estimulación de la peristalsis, 4) promoción de la colonización bacteriana comensal y 5) modificación de las respuestas inmunitarias del huésped (104).

La relación entre el tipo de NE y la ECN ha sido muy estudiada. La LM se ha demostrado el factor protector postnatal más efectivo frente a la ECN (106), describiéndose una menor incidencia de ECN en RNP alimentados con LM. En 1990, un estudio prospectivo que incluyó a 926 RNP ya mostraba que los alimentados exclusivamente con FA tenían de seis a diez veces más probabilidad de desarrollar ECN que los alimentados con LM exclusiva (107). La composición de la LM, como hemos visto previamente, es compleja y dinámica, y sus componentes inmunomoduladores (figura 1) juegan un papel crucial en el efecto protector de la LM frente a la ECN. La LM inhibe la colonización intestinal por flora patógena, potencia la barrera intestinal y controla la respuesta inflamatoria.

COMPONENTES INMUNOMODULADORES DE LA LECHE MATERNA



Figura adaptada de Nolan y colaboradores (106).

Figura 1. Componentes inmunomoduladores de la leche materna.

la LD, pese a que puede perder parte de las ventajas inmunológicas en el proceso de pasteurización, también disminuye el riesgo de ECN en el RNP (12,13,85) al compararla con la alimentación con FA, bien de forma aislada o como complemento a la leche de la propia madre. Un metanálisis reciente evidencia una reducción de alrededor del 4% de ECN y del 2% de ECN grave en los RNP alimentados con LH (13). Parece que a mayor volumen de LH y mayor duración de esta, mayor es el impacto en la incidencia de ECN (13,108).

4.3. SEPSIS TARDÍA

La sepsis neonatal es uno de los principales diagnósticos en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales. Sus signos clínicos son a menudo sutiles, lo que supone un reto diagnóstico en una entidad en que el retraso en el tratamiento puede conllevar secuelas importantes e incluso a la muerte, principalmente en el neonato prematuro y de bajo peso. Se define como sepsis tardía aquella que se inicia después de las 72 horas de vida y en los RNP se asume que son de origen nosocomial. La sepsis tardía supone una causa importante de morbilidad y mortalidad en los RNMP, con una incidencia que oscila entre un 20-40% (51); además predispone a padecer otras morbilidades y tiene un efecto deletéreo en el neurodesarrollo (109).

En el caso de los prematuros, existe una mayor susceptibilidad para infecciones invasivas por una menor función de los neutrófilos y unos niveles más bajos de inmunoglobulinas, de manera que según pasan los días desde su nacimiento, se ven expuestos a distintos

patógenos a través del contacto con el personal del hospital y la colonización de los distintos dispositivos invasivos necesarios para su tratamiento (catéteres intravasculares, tubo endotraqueal...) (Tabla 4). En este sentido la higiene de manos es la medida más eficaz para evitar las infecciones en estos pacientes, ya que disminuye el riesgo de transmisión de gérmenes a través del personal sanitario (17).

Tabla 4. Factores de riesgo para sepsis tardía.

FACTORES DE RIESGO PARA SEPSIS TARDÍA

Prematuridad

Catéter venoso central

Sonda uretral

Intubación endotraqueal y ventilación mecánica

Nutrición parenteral y lípidos intravenosos

Cirugía

Antibióterapia previa

Dotación insuficiente de personal sanitario

Ruptura de las barreras naturales

Enterocolitis necrosante

Fuente: Manual de Pediatría Cruz (17)

Los RNMP alimentados con LM tienen menos riesgo de sepsis tardía que los alimentados con fórmula (13,15,51). El mecanismo exacto es desconocido, pero se barajan dos hipótesis: la LM contiene sustancias bioactivas que protegen frente a la sepsis o la leche de FA contiene factores que aumentan el riesgo (51). Hay estudios que muestran una reducción de un 19% en el riesgo de sepsis tardía por cada incremento de 10ml/kg/día de LM (109).

El beneficio de la LD está menos claro, algunas publicaciones muestran un efecto protector (13,89), mientras que otras no demuestran una reducción significativa de su incidencia comparado con los alimentados con fórmula artificial (51,111).

4.4. DISPLASIA BRONCOPULMONAR

La displasia broncopulmonar (DBP) es una enfermedad pulmonar crónica, originada por la interrupción del desarrollo vascular y pulmonar, en la que intervienen múltiples

factores perinatales. Afecta a RNP con muy bajo peso al nacimiento, especialmente los menores de 1.000g, y supone la causa más frecuente de morbilidad respiratoria crónica en esta población (112).

La introducción de corticoides prenatales, la administración de surfactante y las nuevas estrategias de ventilación mecánica, han supuesto un incremento de la supervivencia de neonatos cada vez más inmaduros, por lo que la incidencia de la DBP no sólo no ha descendido, sino que ha aumentado en este grupo de niños extremadamente prematuros. Según una revisión reciente (113), un 50% de los prematuros extremos desarrollan DBP y la incidencia asciende a un 80% en los < de 25 semanas.

Los criterios diagnósticos actuales de DBP aceptados a partir de los consensos internacionales por la Sociedad Española de Neonatología en el año 2013 (112) se basan en la necesidad de oxígeno y/o soporte respiratorio durante más de 28 días y se clasifica en leve, moderada o grave en función del soporte respiratorio requerido a las 36 semanas de EPM (114) (Tabla 5). Esta clasificación está siendo cada vez más cuestionada, pues se basa estrictamente en el nivel y duración de oxigenoterapia, y no predice adecuadamente la morbilidad respiratoria en los años posteriores.

Tabla 5. Clasificación por grados de la displasia broncopulmonar. Modificado de Jobe y Bancalari (114) y Stenson y colaboradores (115).

GRADO/GRAVEDAD	DEFINICIÓN
1/leve	Necesidad de O ₂ suplementario durante ≥ 28 días pero respirando aire ambiente a las 36 semanas de EPM o al alta, lo que ocurra antes, en menores de 32 semanas de EG o a los 56 días de edad postnatal o al alta, lo que ocurra antes, en los mayores de 32 semanas de EG
2/moderada	Necesidad de O ₂ suplementario durante ≥ 28 días y FiO ₂ < 30% a las 36 semanas de EPM o al alta, lo que ocurra antes, en menores de 32 semanas de EG o a los 56 días de edad postnatal o al alta, lo que ocurra antes, en los mayores de 32 semanas de EG
3/grave	Necesidad de O ₂ suplementario durante ≥ 28 días y FiO ₂ > 30% y/o CPAP o ventilación mecánica a las 36 semanas de EPM o al alta, lo que ocurra antes, en menores de 32 semanas de EG o a los 56 días de edad postnatal o al alta, lo que ocurra antes, en los mayores de 32 semanas de EG
1.F/leve	Necesidad de O ₂ durante ≥ 28 días y documentar una SaO ₂ > 90% con aire ambiente a las 36 semanas de EPM o al alta, lo que ocurra antes, en menores de 32 semanas de EG o a los 56 días de edad postnatal o al alta, lo que ocurra antes, en los mayores de 32 semanas de EG

2.F/moderada	Necesidad de O ₂ suplementario durante ≥ 28 días y necesidad documentada de FiO ₂ <30%, basada en el fallo para mantener una SaO ₂ > 90% tras un test de reducción de O ₂ reglado a las 36 semanas de EPM o al alta, lo que ocurra antes, en menores de 32 semanas de EG o a los 56 días de edad postnatal o al alta, lo que ocurra antes, en los mayores de 32 semanas de EG
3.F ^a	Necesidad de O ₂ durante ≥ 28 días y FiO ₂ > 30% basada en el fallo para mantener una SaO ₂ > 90% y/o CPAP o ventilación mecánica a las 36 semanas de EPM o al alta, lo que ocurra antes, en menores de 32 semanas de EG o a los 56 días de edad postnatal o al alta, lo que ocurra antes, en los mayores de 32 semanas de EG

Fuente: Sánchez Luna M y colaboradores (112).

Abreviaturas: EPM: edad posmenstrual. EG: edad gestacional. CPAP: presión positiva continua. F: fisiológica. a. En las formas 3/graves no es estrictamente necesario confirmar dependencia

Por ello, en los últimos años se han propuesto diferentes definiciones de DBP que se adapten mejor a las necesidades clínicas actuales (incluyendo las cánulas de alto flujo) y tengan mayor capacidad predictiva. La definición aceptada por la Sociedad Española de Neumología Pediátrica es la que cataloga a los niños en tres estadios en función del soporte respiratorio recibido a las 36 semanas de EPM (116):

- No DBP: no precisan oxígeno suplementario ni soporte respiratorio.
- Grado 1: cánulas nasales con flujos ≤ 2 lpm.
- Grado 2: cánulas nasales con flujos > 2 lpm o ventilación mecánica no invasiva.
- Grado 3: ventilación mecánica invasiva.

Esta nueva definición que se propone clasifica correctamente la presencia o ausencia de morbilidad respiratoria grave/mortalidad tardía en el 81% de los RNs (116). A falta de más evidencia que avale la validez de estos nuevos criterios diagnósticos, en la mayoría de los estudios científicos se sigue utilizando la definición y clasificación clásica, basada en los días de oxígeno (112).

La patogenia de la DBP es compleja y multifactorial. Los factores que se han relacionado con la interrupción del desarrollo pulmonar pueden ser de origen antenatal, natal o postnatal; los siguientes son los más importantes: (17,117)

- Factores genéticos
- Crecimiento intrauterino retardado
- Tabaquismo materno
- Edad gestacional

- Ventilación mecánica
- Estrés oxidativo e hiperoxia
- Biotrauma
- Sepsis
- *Ductus arterioso* persistente

El manejo nutricional adecuado se considera un pilar básico en el tratamiento/ prevención de la DBP (117) (Figura 2), con la LM como factor protector importante (50). Los beneficios de la LD están más discutidos, ya que la pasteurización puede alterar algunos de los componentes antioxidantes y antiinflamatorios, así como las propiedades pre y probióticas.

Recientemente Villamor-Martínez y colaboradores (50) en una revisión sistemática describen que, basándose en los resultados de estudios observacionales, la suplementación de la LM con LD en lugar de FA, podría reducir de forma significativa el riesgo de DBP a las 36 semanas de EPM, así como también el utilizar una dieta exclusiva con LH (LM y/o LD y fortificante derivado de LH), o la alimentación con leche fresca de su propia madre, en lugar de pasteurizada. El metaanálisis de ensayos clínicos no encontró protección frente a la DBP utilizando LD en lugar de FA para la suplementación de la LM, aunque sí que se apreciaba una disminución en los días de ventilación mecánica en los estudios que incluían este dato.

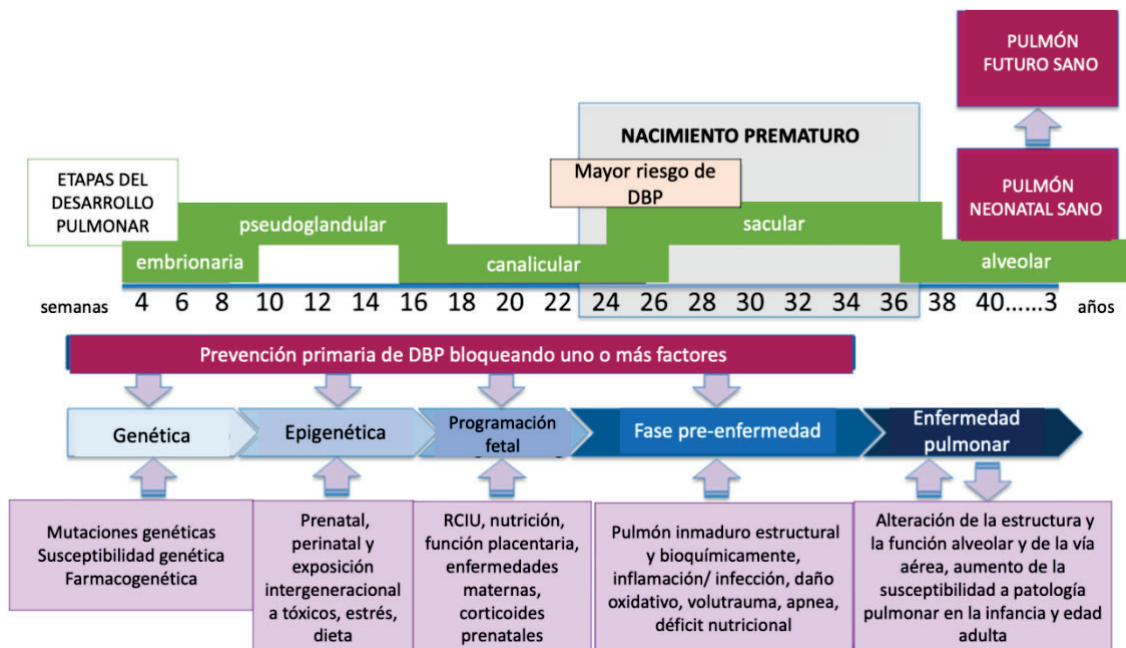


Figura adaptada de McEvoy CT y colaboradores (117).
Figura 2. Prevención primaria de la displasia broncopulmonar: ventana de oportunidad.
 Abreviaturas: DBP: displasia broncopulmonar, RCIU: retraso de crecimiento intrauterino.

4.5. RETINOPATÍA DE LA PREMATURIDAD

La retinopatía de la prematuridad (ROP) es una vitreoretinopatía vasoproliferativa que acontece en niños prematuros, generalmente sometidos a oxigenoterapia, y que tiene una etiología multifactorial, siendo la inmadurez su principal factor de riesgo (118). Actualmente, es la primera causa de ceguera infantil en los países desarrollados, con una pérdida de visión que se produce como consecuencia del desprendimiento de retina que ocurre en los casos más graves (119).

En 1984 se publicó la Clasificación Internacional de la Retinopatía de la Prematuridad (ICROP), punto de partida para unificar criterios en el reconocimiento de la ROP (120). Se describe la enfermedad en función de la localización, la gravedad y la extensión de ésta, definiendo cinco estadios:

- Estadio 1. Línea de demarcación: es una línea definida que limita y separa la retina avascular de la retina vascularizada.
- Estadio 2. Cresta monticular: la línea del estadio 1 se hipertrofia y se eleva del plano retiniano con los shunts y comunicaciones arteriovenosas.
- Estadio 3. Proliferación fibrovascular extrarretiniana: la proliferación fibrovascular o neovascularización se extiende desde la cresta hasta el vítreo.

- Estadio 4. Desprendimiento de retina parcial o subtotal.
- Estadio 5. Desprendimiento de retina total: el desprendimiento de retina es completo.

Enfermedad plus (+): existe un grado aparte que puede combinarse con cualquiera de los otros. Consiste en una dilatación y tortuosidad de la vascularización retiniana del polo posterior en al menos 2 cuadrantes. Denota la existencia de un «shunt» arteriovenoso importante y viene a indicar la presencia de una enfermedad activa y agresiva, por tanto, potencialmente peligrosa. Es un signo de mal pronóstico; cuando aparece enfermedad plus se incrementa el riesgo de resultado desfavorable de un 3 a un 62% (118).

Se han identificado dos factores angiogénicos que participan en la vascularización de la retina, el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) y el IGF-1. El VEGF es secretado por células de la retina avascular y se produce en respuesta a la hipoxia; el IGF-1 es principalmente de aporte exógeno (placenta y líquido amniótico) en la vida fetal pero, a diferencia del anterior, es un factor independiente del oxígeno y es permisivo de la acción del VEGF. Si los niveles de IGF están disminuidos no se lleva a cabo la vascularización normal de la retina a pesar de niveles normales de VEGF. Cuando el RN nace de forma prematura se encuentra en un ambiente hiperóxico respecto al intrauterino, acentuado en muchas ocasiones por el aporte extra requerido para la normal oxigenación debido a la inmadurez pulmonar. Debido a este ambiente hiperóxico cesa la producción del VEGF, ya que este factor se secreta en respuesta a la hipoxia (121), lo que detiene el proceso de vascularización normal. Por otra parte, la prematuridad conlleva niveles más bajos de IGF-1 que impiden el desarrollo normal de los vasos retinianos a pesar de la presencia de niveles normales de VEGF (122). Hay estudios que demuestran una relación directa entre niveles bajos de IGF-1, menor ganancia ponderal y una ROP más grave (123)

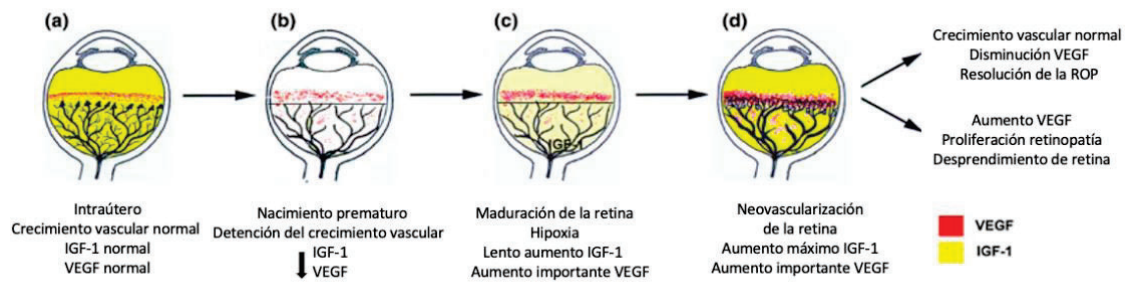


Figura adaptada de Smith LEH (121).

Figura 3. Mecanismo patogénico para la producción de retinopatía de la prematuridad.

Abreviaturas: VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular. IGF-1: factor de crecimiento insulinoide. ROP: retinopatía de la prematuridad.

La ROP apareció de manera epidémica con el inicio del uso libre de la oxigenoterapia en el tratamiento de la patología respiratoria del prematuro (124). Aunque hubiese sido de esperar una disminución de la incidencia con la evolución a un manejo más dirigido, no ha sido así, y debido al aumento de la supervivencia de los prematuros más extremos y, probablemente, a los nuevos rangos de saturación de oxígeno recomendados en este grupo de RNs, la incidencia de ROP ha aumentado los últimos años (122).

Entre otros factores considerados de riesgo para la ROP, estarían el antecedente y el número de transfusiones, la sepsis, la displasia broncopulmonar, los episodios de apnea, la ventilación mecánica, la hemorragia interventricular y la ECN, aunque todos ellos vienen a reflejar un cortejo de afecciones asociadas en sí mismas a la gran inmadurez (118)

Entre los factores protectores, se ha especulado que la LH podría ser uno de ellos (122). La LM, especialmente la leche de madres con parto prematuro, es rica en varios factores bioactivos que pueden ayudar a prevenir la ROP, incluyendo antioxidantes exógenos (carotenoides, retinol y tocoferol) y endógenos (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa y glutatión) y factores de crecimiento (VEGF e IGF-1) (24). El estrés oxidativo y los niveles de IGF-1 desempeñan un papel importante en la patogénesis de la ROP (119). Diferentes estudios muestran un efecto protector de la LH frente a la alimentación con FA (13,119,122) sin observar diferencias entre la LM y la LD (13). En cambio, Schanler y colaboradores (125) encontraron que la incidencia de ROP grave (estadio 3) fue del 5,6% en los RNP de menos de 30 semanas de gestación que fueron

alimentados con LM en comparación con el 19% de los que se alimentaron con LD y el 14% en los alimentados con fórmula artificial.

4.6. NEURODESARROLLO

Pese a los avances en la neonatología, un gran número de RNMP continúan teniendo secuelas neurológicas, siendo la prematuridad una de las principales causas de retraso psicomotor en los países desarrollados (126).

Además de las lesiones intracraneales (hemorragia intraventricular y leucomalacia periventricular), hay muchos otros factores también asociados a la prematuridad que se han relacionado con un peor desarrollo neurológico, incluyendo la EG, la sepsis, la ECN, la DBP, la ingesta subóptima de nutrientes y el retraso de crecimiento, tanto intra como extrauterino (126,127).

Existe evidencia suficiente que sugiere que el uso de la LM en comparación con la fórmula artificial durante la hospitalización afecta positivamente al neurodesarrollo de los RNMP durante la primera infancia y posteriormente (128). Vohr y colaboradores demostraron una relación dosis dependiente entre la ingesta de LM y los resultados en la prueba de Bayley II a los 18 meses de edad corregida. Por cada aumento de 10 ml/kg/día en la ingesta de LM, hubo un aumento de 0,53 puntos en la prueba (129), y esta mejoría se mantuvo a los 30 meses de edad corregida (130).

Un trabajo llevado a cabo por Deoni combinó pruebas funcionales con la medición de la sustancia blanca en las imágenes de la resonancia magnética a una edad entre 10 meses y 4 años de niños nacidos a término y observó que la LM se asociaba con un aumento de la capacidad cognitiva y de la sustancia blanca en comparación con la alimentación con FA o lactancia mixta. (131)

Hasta el momento sólo hay un ensayo clínico que ha estudiado la relación de la LD en prematuros y el neurodesarrollo. Los resultados del DoMINO Trial muestran que a los 18 meses de EG corregida los RNMP que recibieron suplementación con LD en lugar de FA, cuando no había suficiente LM, no mostraban ventajas en las puntuaciones en la prueba Bayley-III a los 18 meses de edad e incluso parecían presentar una mayor incidencia de

bajas puntuaciones en el área cognitiva, aunque este último resultado formaba parte de un análisis exploratorio *a posteriori* (132).

4.7. EFECTOS CARDIOVASCULARES A LARGO PLAZO

Se ha visto que los niños y adultos que nacieron prematuros tienen un mayor riesgo de trastornos cardiovasculares a largo plazo, que incluyen cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, hipertensión arterial sistémica y pulmonar; y una mayor mortalidad por enfermedad cardiovascular (86). Los corazones de los adultos jóvenes que nacieron prematuros muestran un fenotipo cardíaco característico con volumen biventricular reducido, función sistólica y diastólica más baja y un aumento desproporcionado de la masa muscular, entre otras alteraciones (86,87) (Figura 4).

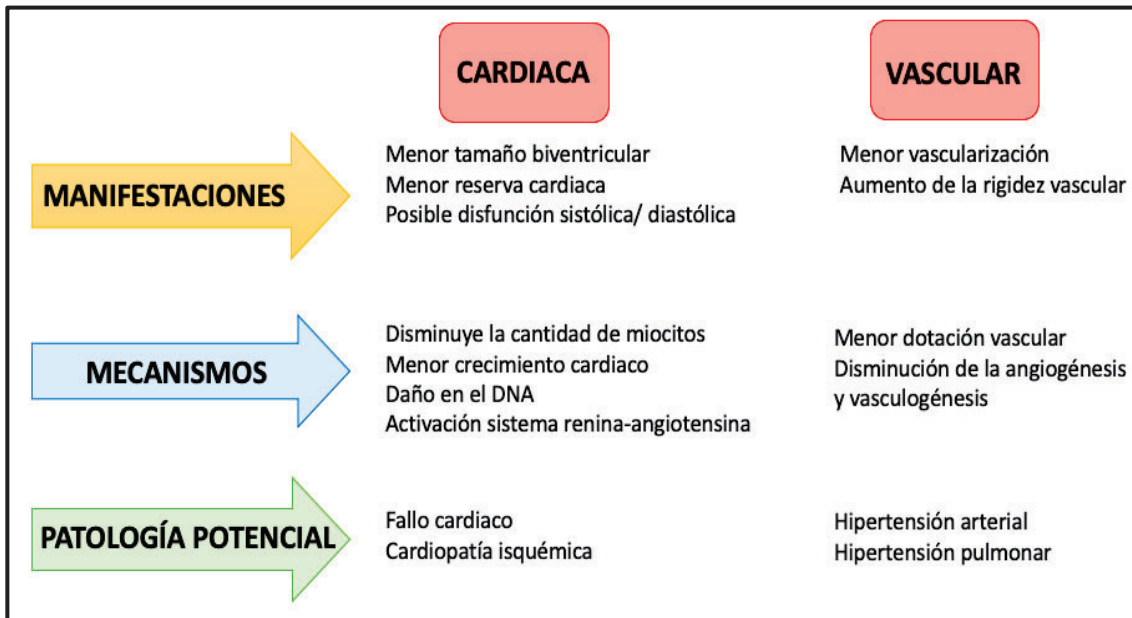


Figura adaptada de Lewandowski AJ y colaboradores (86).

Figura 4. Resumen de las secuelas cardiovasculares a largo plazo en el RNP.

La mecánica cardíaca comienza a experimentar cambios de maduración durante el período neonatal temprano. En los RNP estos cambios fisiológicos se ven afectados por alteraciones negativas en la vascularización y la estructura tanto del ventrículo derecho como izquierdo, y además comorbilidades como la DBP y la hipertensión pulmonar persistente tienen un efecto negativo sobre el desarrollo cardíaco temprano (87).

La alimentación exclusiva con LH durante los primeros meses de vida se ha asociado con la normalización de aspectos del fenotipo cardíaco de los prematuros en la edad adulta, lo que sugiere un posible efecto cardioprotector a largo plazo de la LH sobre la alimentación con fórmula artificial (86,87). El-Khuffash y colaboradores encontraron que los RNP extremos con mayor consumo de LM habían mejorado el rendimiento cardíaco al año de edad, lo que sugiere que el consumo de LM puede desempeñar un papel modulador dinámico de la mecánica cardíaca en los RNP y contribuir en la normalización del fenotipo cardíaco de los prematuros (87).

5. INFLUENCIA DEL SEXO EN EL CURSO CLÍNICO, NUTRICIÓN Y CRECIMIENTO DE LOS RNMP

Las diferencias en la evolución clínica entre sexos en los RN fueron reportadas por primera vez por Clarke en el año 1788 (133); que observó más abortos y muertes perinatales entre los varones que entre las mujeres, así como un mayor peso al nacer en estos (133). Las diferencias biológicas entre sexos son evidentes desde la primera parte del embarazo. En fetos varones existe un 30% más de riesgo de abortos espontáneos con cromosomas normales (134), así como una mayor tasa de prematuridad (135). El sexo masculino ha demostrado constantemente ser un factor de riesgo independiente para los resultados adversos del embarazo. A principios de la década de 1980, se demostró que la madurez pulmonar fetal era mayor en los fetos de sexo femenino y que los andrógenos tenían un papel inhibitorio en la producción de surfactante (136). La evidencia científica muestra que las mujeres presentan mejores resultados neonatales después del parto prematuro (137), mostrando una mayor supervivencia, así como menores comorbilidades asociadas a la prematuridad (138,139).

Binet y colaboradores (138), investigaron si existían diferencias entre sexos en supervivencia y complicaciones asociadas a la prematuridad en RN extremadamente prematuros (< 27 semanas de EG). En el trabajo incluyeron a 2744 RNP extremos ingresados en las unidades de cuidados intensivos neonatales que participaron en la Red Neonatal Canadiense. Analizaron las siguientes variables: supervivencia, ECN, DBP, hemorragia intraventricular ≥ 3 , ROP ≥ 3 , días de ventilación mecánica y estancia hospitalaria. De ellos el 54% fueron de sexo masculino y el 46% de sexo femenino. El peso medio al nacer de las RN mujeres fue significativamente menor en todas las EG.

Aunque no se encontraron diferencias significativas en la supervivencia al alta entre los sexos, la prevalencia de DBP, la combinación de las diferentes comorbilidades y la mortalidad de los RNP con una EG comprendida entre las 24 y 26 semanas fueron significativamente más altas en los varones. Este estudio sugiere que, en la era post-surfactante, los varones siguen teniendo un mayor riesgo de complicaciones respiratorias y pueden tener una mayor mortalidad cuando nacen entre las 24 y 26 semanas de EG (138).

Las diferencias en el crecimiento postnatal de los RNP en función del sexo también han sido estudiadas (140,141). Es bien sabido que el peso, la longitud y el PC de los RNP varones son mayores que el de las mujeres en todas las edades gestacionales. Por ello, utilizamos gráficas de crecimiento específicas para cada sexo (140). Además, parece que los aportes nutricionales de la LM también varían en función del sexo. En un estudio dónde se analizaron diferentes muestras de leche de 27 madres de RNP y 34 madres de RNT se observó que la leche de las madres de hijos varones tenía más cantidad de calorías y lípidos en ambos grupos (142). Asimismo, en otro estudio, se vio que también existen diferencias en el volumen ingerido, siendo mayor en los varones que en las mujeres (143). En su trabajo de revisión, Alur y colaboradores (141), pusieron en evidencia que los diferentes estudios publicados al respecto muestran resultados dispares en cuanto al efecto del sexo y la nutrición precoz sobre el crecimiento y el neurodesarrollo (*Tabla 6*). Del mismo modo, en esta publicación se concluye que aunque existen diferencias entre sexos, son necesarios más estudios para recomendar que la LD sea sexo-específica o modificar las estrategias nutricionales en función del sexo (141).

Tabla 6. Diferencias entre sexos en parámetros nutricionales en RNP.

AUTORES	ESTUDIOS	IMPACTO EN EL CRECIMIENTO
Poindexter y col.(144)	Administración de aminoácidos en RNP precoz vs tardía (n=1018)	Mayor probabilidad (2 y 3,3 veces) de tener un PC < p10 y p55, respectivamente, a los 18m en varones. Sin encontrar diferencias en las mujeres
Christman y col.(145)	Mayor cantidad de aminoácidos y calorías las primeras 5 semanas	Mayor ganancia ponderal (1,3-4,8g/kg/día) en varones. Los varones tuvieron mayor riesgo de presentar un IDM por debajo de 85
Van der Akker y col.(146)	Glucosa sola vs glucosa+aminoácidos los 3 primeros días de vida	En el grupo de varones que recibieron aminoácidos de forma precoz fue más frecuente la supervivencia libre de secuelas a los 2 años, sin observar diferencias en las mujeres.
Tottman y col.(147)	Aportes de lípidos la 1ª semana de vida	En las mujeres pero no en los varones, la supervivencia libre de secuelas neurológicas se asoció de forma positiva con los aportes de lípidos la 1ª semana

Fuente: Tabla adaptada de Alur y Ramarao (141)

Abreviaturas: RNP: recién nacido prematuro, PC: perímetro cefálico, IDM: índice de desarrollo mental

6. IMPACTO DE LA ENTRADA DE LA LECHE DE DONANTE EN LAS UNIDADES NEONATALES

6.1. BANCOS DE LECHE

Un banco de LH es un servicio especializado orientado a la promoción y el apoyo a la lactancia materna y responsable de proporcionar leche donada a los pacientes que la precisen, garantizando su seguridad y su calidad. Para ello, se encarga de la selección de las donantes, así como del almacenamiento, el procesamiento, el análisis y la distribución de la leche (148).

El primer banco de LH se creó en Viena en 1909, existiendo actualmente casi 1.000 bancos en todo el mundo, 214 en Europa. En España, el primero se inauguró en 2001 en Baleares y desde entonces se han creado 16 centros más en 13 comunidades autónomas (Baleares, Madrid, Comunidad Valenciana, Cataluña, Andalucía, Aragón, Extremadura, Castilla y León, Galicia, Asturias, País Vasco, Murcia y Cantabria) (149). El banco de Cataluña se abrió en 2011.

En España hemos pasado de distribuir 774 litros de LD para 333 receptores en 2009 a 4.937 litros para 2.281 neonatos en 2016 y 2190 donantes para 3241 RNs en 2020

(<http://www.aeblh.org>) (149). Existen diferentes modelos de bancos de leche, en función de su vinculación a un servicio de neonatología o a un banco de sangre y tejidos, de su tamaño y su funcionamiento, pero compartiendo todos ellos el objetivo principal (148).

Numerosos países han desarrollado guías nacionales para homogeneizar los criterios que aplican sus bancos de LH (149–151). Basándose en dichas guías y en las prácticas comunes en los bancos de leche españoles, la Asociación Española de Bancos de Leche Humana ha elaborado, por consenso de los bancos de leche operativos, unos estándares para ser utilizados como guía para la puesta en marcha y funcionamiento de los bancos de leche en nuestro país, garantizando la seguridad y la calidad de la LD distribuida.

La leche se dona al banco de forma voluntaria. Las donantes se someten a un análisis de VIH, hepatitis B y C y sífilis. En función de los factores de riesgo o si las donantes son originarias de zonas endémicas se deben incluir serologías frente a HTLV I/II y Chagas (111,149); aparte de una entrevista de estado de salud y hábitos. Se proporcionan instrucciones para la extracción y conservación de la leche y se facilita material para ello (111). Las donantes se extraen la leche en el domicilio y la conservan en frío (refrigerada o congelada) inmediatamente (152). Cuando se recibe la leche, se comprueba que los recipientes sean adecuados, que estén en buenas condiciones y correctamente etiquetados (152). La LD, tras llegar al banco de leche, se congela inmediatamente, posteriormente se descongela preferentemente a 4 °C antes de la pasteurización, pudiendo usarse la descongelación parcial en baño térmico (149). Previamente al proceso de pasteurización cada lote de leche se someterá a un proceso de análisis según los protocolos validados por cada banco de leche (153). Después es sometida a pasteurización Holder, calentándola a 62,5°C durante 30 min, seguido de un rápido enfriamiento (153). Tras ello, se toma una muestra para cultivo microbiológico. La leche pasteurizada puede almacenarse en el congelador durante un máximo de 3 meses a -20/30°C y hasta 12 meses a -80°C (154). También se realizan análisis de macronutrientes, lo que permite conocer el contenido en energía, grasas, proteínas y lactosa. La trazabilidad está garantizada desde el inicio del proceso hasta que la leche es entregada al receptor (152).

6.2. POBLACIÓN DIANA DE LA LECHE DONADA

Los receptores habituales de la LD son prematuros menores de 32 semanas de EG o menores de 1.500 g. Otros receptores son RN con enfermedad quirúrgica abdominal,

retraso de crecimiento intrauterino, intolerancia digestiva o cardiopatías (149). En algunos bancos de leche si la cantidad de leche disponible lo permite, se están ampliando los criterios para beneficiar también al grupo de RNP moderados (<34 semanas de EG).

Una revisión sistemática publicada este año, evalúa la evidencia científica acerca del uso de LD en poblaciones diferentes a los prematuros, en ella se incluyen 26 artículos, y concluye que hace falta más evidencia para recomendar la LD a población no prematura, valorando resultados clínicos, de crecimiento y tasas de lactancia materna (155).

En un estudio realizado en una unidad de maternidad de florida, evaluaron el impacto de suplementar con LD a los RN a término que recibían LM y que necesitaban un suplemento por indicación médica (hipoglucemia, hiperbilirrubinemia y pérdida ponderal >8% a las 40 horas de vida) en lugar de con FA y objetivaron que los RN que recibieron LD tenían cinco veces más probabilidades de ser amamantados de forma exclusiva a los 6 meses de vida (156). La suplementación intrahospitalaria con fa es uno de los factores que se ha relacionado con el cese precoz de la LM (157). Por ello, tratar de evitar la suplementación de LM y hacerlo sólo con indicaciones médicas es una de las medidas que se nombran en los estamentos de la iniciativa hospital amigo de los niños (IHAN), programa de UNICEF que tiene como objetivo principal aumentar la tasa de lm exclusiva hasta los 6 meses de vida, tal y como recomiendan las principales sociedades científicas (OMS; AAP, AEP ...) (158).

6.3. RELACIÓN COSTE-EFICACIA

Desde un punto de vista económico, el uso de leche de banco supone un ahorro del gasto sanitario. Centrándose exclusivamente en el coste a corto y largo plazo que supone la ECN, varios estudios (110,159,160) concluyen que el coste económico de obtener leche donada es insignificante en relación con el ahorro conseguido al prevenir casos de enterocolitis necrosante.

En cambio, una revisión sistemática publicada en 2020 (161) que valora la rentabilidad del uso de LD sugiere que aunque la mayoría de estudios previos indican que la disponibilidad de LD ahorra costos, la heterogeneidad de la metodología utilizada en los

estudios previos hace difícil establecer conclusiones sólidas, se necesitan más investigaciones y transparencia en futuros estudios dónde se tengan en cuenta todos los aspectos relacionados con el uso de LD.

La LD reduce costes asociados a la ECN y el uso de fórmula, pero es significativamente más cara que la LM, la cual reduce de forma más acusada muchas otras morbilidades y secuelas a corto y largo plazo y, por tanto, los costes relacionados con la asistencia al RNMP. La promoción de la lactancia materna y de su duración debería ser primordial en todos los entornos de atención médica.

6.4. GRADO DE ACEPTACIÓN

Varios estudios han estudiado la aceptación de la LD por parte de las familias y el personal sanitario de las Unidades de Neonatología (162). Sigue habiendo preocupación sobre la seguridad y la calidad de la LD en los países en desarrollo, especialmente en aquellos en los que la prevalencia del VIH es alta (162,163).

Brownell y colaboradores examinaron las causas de rechazo de consentimiento de LD en un hospital grande de EEUU y encontraron como factores predictores la raza no blanca y la mayor EG, destacando que a lo largo de los 5 años del estudio la tasa de rechazo fue disminuyendo tras la implantación del programa de LD (63). Otros investigadores han encontrado consideraciones religiosas relacionadas con el rechazo de LD, las cuales podrían solventarse con una buena información e intentando establecer una relación de confianza con las familias para establecer de forma conjunta el mejor plan de actuación (164).

Centrándose en el momento para informar sobre la disponibilidad de LD, Esquerra-Zwiers (165) describe que algunas madres de RNMP veían inapropiado que se les solicitase el consentimiento para la LD antes de que ellas hubieran podido tener la oportunidad de aportar su propia leche, consideraban que la solicitud de consentimiento de LD tenía que ser en un momento diferente a la solicitud del resto de consentimientos de ingreso en UCIN.

6.5. TASA DE LACTANCIA MATERNA AL ALTA

Conseguir una adecuada producción de leche tras un parto prematuro puede ser complicado. Por ello es muy importante la promoción de la lactancia materna durante las primeras 2 semanas de vida ya que se ha visto una correlación entre el volumen de LM a los 14 y 28 días de vida y la tasa de lactancia materna exclusiva al alta. Valentine (18) sugiere que existe un periodo crítico en el que es importante la promoción de la lactancia. En su estudio, por cada 1% de aumento de LM que se produce durante los primeros 14 y 28 días de vida la probabilidad de una lactancia materna exclusiva al alta aumenta unas 7 y 17 veces, respectivamente y se ve una fuerte correlación entre lactancia materna exclusiva al alta y producción de LM > 50% de los aportes totales a los 14 días de vida y > 83% a los 28 días de vida.

Hay cierta controversia en cuanto al impacto de la disponibilidad de LD en las tasas de lactancia materna. La motivación materna podría disminuir al disponer de otras formas de LH, aunque el estudio de Larena y colaboradores muestra lo contrario (111). Tampoco se encontraron diferencias en la administración exclusiva de leche de propia madre a los 28 días de vida ni al alta en una revisión sistemática (166). Una encuesta italiana publicada en 2013 (167) mostró una mayor tasa de lactancia materna exclusiva al alta en las unidades que disponían de LD. En un estudio multicéntrico californiano (168), se observó un incremento de un 10% en el porcentaje de lactancia materna exclusiva al alta en RN menores de 1500g ingresados en una unidad de Cuidados Intensivos tras la introducción de LD; sin embargo, este incremento se observó también en el mismo periodo de tiempo en otras unidades que no disponían de LD.

JUSTIFICACIÓN

Desde el punto de vista biológico, no hay duda de que la LH es el mejor alimento para el RN: su composición es especie-específica e incluye factores no estrictamente nutricionales que contribuyen al desarrollo y maduración de distintos órganos y sistemas (14–16). Sin embargo, las madres de los RNMP se enfrentan a múltiples retos para iniciar y mantener una producción de leche suficiente para alimentar a sus hijos (45).

La LD es un recurso costoso, pero que ha demostrado reducir la incidencia de algunas complicaciones de la prematuridad que suponen un gasto mucho mayor en el cuidado neonatal, como la enterocolitis necrosante (12,13,85), por lo que su uso se introdujo en nuestra unidad a partir de julio de 2011. Sin embargo, persisten aún múltiples incógnitas sobre las consecuencias particulares de la alimentación con leche donada frente a la leche artificial debido a que muchos de los estudios no utilizaban fórmulas específicas para prematuros ni fortificaban la LD, prácticas que son actualmente estándar en el cuidado neonatal (48), o incluían neonatos de mayor edad y peso que el grupo en el que se centra este análisis (12,48)

Esta tesis es relevante como control de calidad de nuestra práctica clínica y busca también valorar la repercusión de la implementación de un cambio terapéutico en los resultados de salud de nuestros RNMP. Al mismo tiempo, pretende aportar evidencia sobre el impacto de la alimentación con LH frente a fórmula artificial en una población seleccionada (≤ 32 semanas), con especial susceptibilidad a las complicaciones derivadas de la inmadurez, basándonos en una muestra en la que el cuidado ha sido homogéneo y en consonancia con los estándares más actuales, incluidos los de alimentación (utilizando nutrición parenteral optimizada hasta alcanzar la enteral completa precoz y con el empleo de fórmula específica para prematuros y fortificación de la LH) y en la que disponemos de datos nutricionales detallados. Se evaluará el cumplimiento de la pauta de alimentación con LD, se estimará la existencia de diferencias en la evolución y las complicaciones más habituales de los RNMP incluyendo su crecimiento durante el ingreso neonatal y se comprobará si existe de variación en las tasas de alimentación con leche de la propia madre en este grupo.

HIPÓTESIS

La introducción de la suplementación con leche humana pasteurizada en lugar de leche de fórmula cuando la leche de propia madre no es suficiente para cubrir las necesidades de alimentación enteral en los recién nacidos muy prematuros tendrá un efecto positivo en la incidencia de complicaciones de la prematuridad, particularmente la enterocolitis necrosante y la sepsis tardía, sin modificar las tasas de lactancia materna, pero con posibles consecuencias negativas en el crecimiento de los recién nacidos muy prematuros.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la implementación del uso de leche humana de donante y la influencia de la introducción de leche humana de donante y de la exposición a los diferentes tipos de alimentación (leche de propia madre, leche humana de donante, leche artificial) en los recién nacidos muy prematuros ingresados en una unidad de cuidados intensivos de tercer nivel, en la incidencia de enterocolitis necrosante y/o sepsis tardía y de otras complicaciones de la prematuridad, en el crecimiento de los recién nacidos muy prematuros y en las tasas de lactancia materna en esta población.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivo primario

1. Analizar la prevalencia de las complicaciones más frecuentes asociadas a la prematuridad, particularmente la enterocolitis necrosante y la sepsis tardía, entre los recién nacidos muy prematuros antes y después de la disponibilidad de leche donada para la suplementación de la leche de propia madre.

Objetivos secundarios

1. Evaluar la tasa de lactancia materna al inicio del ingreso, a los 28 días de vida y al alta antes y después de la disponibilidad de leche donada para la suplementación de la leche de propia madre.*
2. Comparar las principales variables nutricionales entre los grupos estudiados (antes y después de la disponibilidad de leche donada para la suplementación de la leche de propia madre).*
3. Comparar la evolución del crecimiento entre los grupos estudiados (antes y después de la disponibilidad de leche donada para la suplementación de la leche de propia madre).*
4. Evaluar los aspectos previamente especificados en función del porcentaje de leche humana recibida, incluyendo la evaluación de la composición corporal de manera indirecta mediante datos antropométricos.

*objetivos correspondientes al artículo publicado

METODOLOGÍA

Diseño del estudio: Estudio unicéntrico, observacional, de cohortes retrospectivas realizado en una unidad de cuidados intensivos neonatales de III nivel. En un primer análisis, los pacientes se dividieron en un periodo previo (periodo 1) y otro posterior (periodo 2) a la introducción de LD en la unidad. Posteriormente, se hizo un segundo análisis de la muestra, dónde se definieron las cohortes en función del porcentaje de LH (leche de su propia madre y/o LD) recibida durante los primeros 28 días de vida. El tamaño muestral fue calculado para detectar una reducción en la incidencia de la variable compuesta ECN y/o sepsis tardía desde una cifra basal del 25% hasta un tercio de la misma (8%), basándonos en lo recogido en la literatura. El tamaño muestral requerido para mostrar una diferencia significativa de esta magnitud era de 82 pacientes por grupo con un intervalo de confianza del 95% y un poder estadístico del 80%. Con la tasa de ingresos de la unidad, se calculó que se alcanzaría este número incluyendo un período de 2 años a cada lado del momento de implementación. El estudio respetó los principios éticos de la Declaración de Helsinki, y fue aprobado por el Comité de Ética Local (Comité de Ética Fundació Sant Joan de Déu; PIC-20-16).

Pacientes: Se incluyeron los RN de EG menor o igual a 32+0 semanas, ingresados antes de las 24 horas de vida en la unidad y que sobrevivieron más allá de la primera semana. Los pacientes con malformaciones congénitas graves, anomalías cromosómicas, metabólicas o genéticas, y aquellos en los que faltaban datos en la historia clínica quedaron excluidos del estudio. El periodo 1 comprende los 2 años antes (2009-2010) y el periodo 2 los años posteriores (2012-2013) a la introducción de LD en nuestra unidad. Para evitar factores de confusión derivados de la implementación de un nuevo protocolo, se excluyeron los pacientes nacidos en el año 2011, año en que introdujo la LD en la unidad. En el segundo análisis de la muestra, análisis por exposición, se excluyeron también aquellos pacientes que no recibieron NE los primeros 28 días de vida o cuyos datos nutricionales estaban incompletos.

Protocolos clínicos: El manejo nutricional de los RNP siguió los protocolos de la unidad basados en las recomendaciones internacionales. Como ha sido descrito en un trabajo previo (9), la nutrición parenteral se inició inmediatamente tras el nacimiento a través de

una catéter venoso central con aportes de 2,5g/kg de proteínas, 8,6g/kg de hidratos de carbono, 2g/kg de lípidos y 62 kcal/kg, con incrementos graduales hasta alcanzar 3,5-4g/kg de proteínas, 17-17,5g/kg de hidratos de carbono, 3g/kg de lípidos y 100 kcal/kg en función de la tolerancia metabólica y la progresión de la NE. La NE se inició de forma precoz, según la estabilidad clínica del paciente, siendo la leche de su propia madre la primera opción. Cuando el volumen de NE prescrito superaba la cantidad de LM disponible se suplementaba con FP (Alprem®, Nestlé, Switzerland) hasta el año 2011. A partir de ese momento, se introdujo la LD en la unidad, por tanto, si los padres aceptaban su uso, la LD se convirtió en la primera alternativa cuando la LM no estaba disponible o era insuficiente. El protocolo contemplaba la administración de LD hasta el mes de vida en los menores de 28 semanas o 1000 g y durante la primera semana en los RN entre 28 y 32 semanas y un peso mayor de 1000 g. Toda la LH se fortificó de forma estándar (Enfamil® Human Milk Fortifier Powder, Mead Johnson, Chicago), que consiste en 1 g de fortificante por cada 25 ml de LH, cuando se alcanzaron aportes de 80-100 ml/kg/día. Así pues, la diferencia entre el periodo 1 y el periodo 2 fue la suplementación con FP (Alprem®, Nestlé, Switzerland) o LD respectivamente cuando el volumen de NE prescrito superaba la disponibilidad de leche de la propia madre. No hubo otras diferencias en los protocolos clínicos de la unidad durante los años de estudio.

Variables de estudio:

Las variables clínicas y de crecimiento, así como los aportes nutricionales fueron recogidos de las historias clínicas y de las bases de datos asistenciales.

Nutrición: Los volúmenes de nutrición parenteral y NE se extrajeron de las gráficas clínicas. Los macronutrientes vía enteral se calcularon asumiendo la composición estándar de la LH (*Tabla 7*) (169) y según la información del fabricante en el caso de las fórmulas artificiales. Se asumió que la LD era LM madura para fines de cálculo de nutrientes. Los aportes de macronutrientes vía parenteral se calcularon mediante los registros de nutrición parenteral pautada y recibida. Los aportes nutricionales se recogieron de forma diaria los primeros 14 días de vida y posteriormente a los 28 días y las 36 semanas de EPM. Se recogieron también los días de vida de inicio de la NE y al alcanzar la NE total (que se definió como el primer día sin aporte nutricional endovenoso) además del porcentaje de leche de su propia madre recibida, respecto al total de NE, a los 7, 14, 28 días de vida, en el momento en que se alcanzó la NE total y al alta.

Tabla 7. Composición de la leche humana (169).

		Leche de transición RNP (6-10 días)	Leche madura RNP (>30 días)	Leche madura RNT (>30 días)
MACRO-NUTRIENTES (por 100ml)	Energía (Kcal)	60	69	64
	Proteínas (g)	1,9	1,5	1,2
	Grasas (g)	3,4	3,6	3,4
	Carbohidratos (g)	6,3	6,7	6,7

Fuente: Elaboración propia

Abreviaturas: RNP: recién nacido pretérmino, RNP: recién nacido a término.

En el segundo análisis, el porcentaje de LH (leche de la propia madre y LD) recibida durante los primeros 28 días de vida se calculó de la siguiente forma: por un lado, se calculó el porcentaje de LH diariamente durante los primeros 14 días de vida y se obtuvo la media de estas primeras dos semanas. Luego, se ponderó esta media de los primeros 14 días con el porcentaje de leche recibida el día 28 de vida y se obtuvo un valor que fue el que se empleó como variable de estudio; clasificando a los pacientes en grupo 1 si la cantidad de LH recibida fue mayor o igual al 75% de la ingesta y grupo 2 si fue menor 75%.

Crecimiento: El peso fue evaluado al ingreso, a los 14 y a los 28 días de vida, a las 36 semanas EPM y al alta. Además, se registraron el peso mínimo y el día de vida en el que se alcanzó y el día de vida en el que se recuperó el peso al nacimiento. La longitud y el perímetro cefálico se recogieron al nacimiento y al alta. Para hacer las comparaciones entre diferentes EGs se transformaron las medidas en z-scores utilizando los estándares de crecimiento locales en el primer análisis (170). Tras la publicación del primer análisis, habiéndose hecho accesibles, validados y crecientemente empleados en la literatura del área, nos decantamos por el uso de los estándares de Intergrowth-21 en el segundo análisis (81,171,172) hasta las 40 semanas de EPM. A partir de las 40 semanas de EPM se utilizaron los estándares de la OMS en ambos análisis (173). Utilizamos el concepto Fallo de Crecimiento Postnatal (FCP) para referirnos a una caída de z-score de más de 1,34 entre dos puntos, como describieron Izquierdo y colaboradores previamente (71,174). Con la intención de evaluar la simetría del ritmo de crecimiento entre cabeza y cuerpo, se calculó la diferencia de z-score entre el perímetro cefálico y el peso en el mismo punto temporal. Para hacer una estimación de la composición corporal utilizamos la relación

peso/longitud (kg/m) y el índice de masa corporal (IMC kg/m²) al nacimiento y al alta y el z-score de la relación peso/longitud al alta, como se describe en el artículo de Villar y colaboradores (81).

Variables clínicas: Se estudiaron las principales complicaciones de la prematuridad como resultados clínicos. La ECN se definió utilizando los criterios de Bell, con diagnóstico de ECN si se había clasificado como un estadio mayor o igual a II (101). La sepsis tardía se definió como la presencia de hemocultivo o cultivo de líquido estéril positivo a una edad igual o posterior al 4º día de vida. La hemorragia intraventricular se graduó según Papile y colaboradores (175). La persistencia de ductus arterioso se diagnosticó por la presencia de signos clínicos (soplo cardíaco, precordio hiperdinámico, pulsos saltones, aumento de la presión diferencial (presión de pulso) y/o empeoramiento del estado respiratorio) junto una ecocardiografía con cortocircuito izquierda-derecha (176). La DBP se definió como la necesidad de oxígeno durante más de 28 días (112). Los estadios de la ROP se asignaron según el Comité Internacional para la clasificación de la ROP (ICROP) (120) y se consideró grave si necesitó tratamiento con láser.

Análisis estadístico: Todos los datos fueron analizados con el programa SPSS® (Statistical Package for Social Sciences, IBM Corp, Armonk, NY, USA) software, v25. Las variables cualitativas analizadas se expresaron mediante distribución de frecuencias o porcentajes y las variables cuantitativas mediante medias y desviaciones estándar (DE). Para las comparaciones entre cohortes se utilizaron los tests estadísticos adecuados (*t*-Student para variables cuantitativas, χ^2 para variables cualitativas). El nivel de significación elegido fue $p < 0.05$. Se utilizó un modelo de regresión logística para analizar la diferencia de riesgo de ECN entre el periodo 1 y 2 ajustando por covariables relevantes. Se utilizaron modelos de regresión lineal o logística en función de la naturaleza de las variables para ponderar los posibles factores de confusión de los principales resultados.

RESULTADOS

1. ANÁLISIS POR PERIODOS (ANTES Y DESPUÉS DE LA INTRODUCCIÓN DE LECHE HUMANA DE DONANTE EN LA UNIDAD)

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Un total de 256 RNMP ingresaron en nuestra unidad durante su primer día de vida durante el período de estudio. De ellos, 23 pacientes presentaban criterios de exclusión, quedando un total de 227 para el primer análisis, 99 pertenecían al periodo 1 (previo a la introducción de LD) y 128 al periodo 2 (tras la introducción de LD) (*Figura 5*). Las características basales de la muestra quedan resumidas en la *tabla 8*. No se encontraron diferencias significativas entre ambos periodos en cuanto a EG al nacimiento, sexo, peso al nacimiento, restricción del crecimiento intrauterino, corticoterapia prenatal, incidencia de partos múltiples, parto mediante cesárea o gravedad al ingreso según el índice CRIB. El peso al nacimiento fue discretamente menor en el periodo 2, sin diferencias en el z-score (*Tabla 8*). Al analizar las características basales por sexos, encontramos mayor número de RN con crecimiento intrauterino retardado del sexo femenino en el periodo 1, sin encontrar otras diferencias (*Tabla 9*).

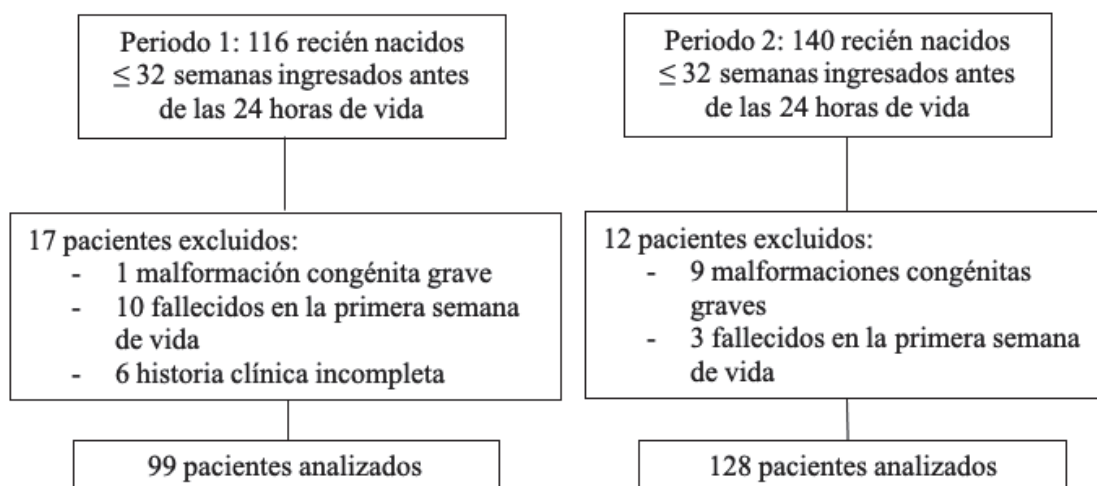


Figura 5. Diagrama de flujo de los pacientes del primer análisis (análisis por periodos).

Tabla 8. Comparación de las características basales de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2.

	Muestra completa			Edad gestacional ≤ 28 semanas			Edad gestacional > 28 semanas		
	Periodo 1 (n=99)	Periodo 2 (n=128)	p	Periodo 1 (n=26)	Periodo 2 (n= 43)	p	Periodo 1 (n=73)	Periodo 2 (n= 85)	p
Edad gestacional (semanas)	29,5 ± 2,3	29,1 ± 2,3	0,227	26,2 ± 1,3	26,3 ± 1,3	0,853	30,7 ± 1,1	30,5 ± 1,2	0,180
Peso al nacimiento (g)	1283 ± 393	1197 ± 370	0,095	844 ± 183	854 ± 210	0,759	1439 ± 323	1371 ± 306	0,499
Z-score peso al nacimiento	0,11 ± 0,9	-0,14 ± 0,9	0,204	0,05 ± 1,0	-0,12 ± 1,1	0,516	-0,00 ± 0,8	-0,16 ± 0,9	0,261
Índice de CRIB	2,2 ± 3,0	2,8 ± 3,1	0,188	5,5 ± 3,8	5,1 ± 3,3	0,622	1,0 ± 1,4	1,6 ± 2,1	0,062
Sexo (masculino)	56 (56,6%)	69 (53,9%)	0,690	14 (53,8%)	23 (53,5%)	0,977	42 (57,5%)	46 (54,1%)	0,666
CIR	18 (18,2%)	15 (11,7%)	0,171	7 (26,9%)	4 (9,3%)	0,087	11 (15,2%)	11 (12,9%)	0,700
PEG	7 (7,2%)	10 (8,6%)	0,706	3 (11,5%)	4 (10,0%)	1,000	4 (5,6%)	6 (7,9%)	0,747
Gestación múltiple	39 (39,4%)	47 (36,7%)	0,771	8 (30,8%)	12 (27,9%)	0,800	31 (42,5%)	35 (41,2%)	0,870
Cesárea	55 (55,6%)	86 (67,2%)	0,073	17 (65,4%)	29 (67,4%)	0,861	38 (52,1%)	57 (67,1%)	0,055
Corticoides prenatales (2 o más dosis)	69 (69,7%)	79 (61,7%)	0,211	14 (53,8%)	29 (67,4%)	0,259	55 (75,3%)	50 (58,8%)	0,028

Abreviaturas: CRIB: Clinical Risk Index for Babies, CIR: Crecimiento intrauterino retardado, PEG: Pequeño para la edad gestacional. Los valores son media ± DE o número (%).

Tabla 9. Comparación de las características basales de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2 por sexos.

	Masculino			Femenino		
	Periodo 1 (n=56)	Periodo 2 (n=69)	p	Periodo 1 (n=43)	Periodo 2 (n=59)	p
Edad gestacional (semanas)	29,6 ± 2,2	29,2 ± 2,2	0,268	29,4 ± 2,4	29,1 ± 2,6	0,558
Peso al nacimiento (g)	1328 ± 374	1212 ± 370	0,086	1225 ± 414	1181 ± 373	0,576
Z-score peso al nacimiento	0,03 ± 0,9	-0,20 ± 1,0	0,179	-0,01 ± 0,9	-0,07 ± 0,8	0,716
Índice de CRIB	2,1 ± 2,7	2,6 ± 2,9	0,307	2,4 ± 3,3	2,9 ± 3,2	0,419
CIR	7 (12,5%)	11 (15,9%)	0,619	11 (25,6%)	4 (6,8%)	0,011
PEG	5 (9,1%)	8 (12,7%)	0,571	2 (4,8%)	2 (3,8%)	1,000
Gestación múltiple	22 (39,3%)	25 (36,2%)	0,853	17 (39,5%)	22 (37,3%)	0,839
Cesárea	32 (57,1%)	44 (63,8%)	0,468	23 (53,5%)	42 (71,2%)	0,116
Corticoides prenatales (2 o más dosis)	41 (73,2%)	41 (59,4%)	0,227	28 (65,1%)	38 (64,4%)	0,332

Abreviaturas: CRIB: Clinical Risk Index for Babies, CIR: Crecimiento intrauterino retardado, PEG: Pequeño para la edad gestacional. Los valores son media ± DE o número (%).

1.2. IMPLEMENTACIÓN DEL PROTOCOLO DE LD

Con el fin de valorar la implementación del protocolo de LD vigente en la unidad se analizó cuál había sido el porcentaje de pacientes que recibieron LD bien de forma exclusiva o como suplemento de la leche de propia madre en el segundo periodo del estudio. De los niños que recibieron alimentación en su primer día de vida, la leche fue de donante de forma exclusiva en el 55,5% de los RN \leq 28 semanas y en el 38% de los $>$ 28 semanas. Este porcentaje disminuye con el paso de los días, de forma que no encontramos ningún paciente de más de 28 semanas de EG que recibiera LD de forma exclusiva a los 7 días y algo menos del 10% en los menores de 28 semanas de EG (*Tabla 10*). En cuanto a los pacientes que recibieron LD como suplemento de la leche de propia madre vemos que este porcentaje es del 16,3% en el grupo de \leq 28 semanas y del 10,5% en el grupo de $>$ 28 semanas a los 28 días de vida (*Tabla 10*).

Tabla 10. Pacientes que recibieron LD (de forma exclusiva o como suplemento de la leche de la propia madre en los puntos temporales señalados).

		LD exclusiva		LD como suplemento	
		≤28 ⁰ semanas	>28 ⁰ semanas	≤28 ⁰ semanas	>28 ⁰ semanas
Día 1	Toda la población	5/43 (11,6%)	8/85 (9,4%)	0/43 (0%)	0/85 (0%)
	Sólo los que reciben NE	5/9 (55,5%)	8/21 (38%)	0/9 (0%)	0/21 (0%)
Día 7	Toda la población	3/43 (6,9%)	0/85 (0%)	2/43 (4,6%)	12/85 (14,1%)
	Sólo los que reciben NE	3/35 (8,5%)	0/83 (0%)	2/35 (5,7%)	12/83 (14,4%)
Día 14	Toda la población	2/43 (4,6%)	0/85 (0%)	3/43 (6,9%)	10/85 (1,2%)
	Sólo los que reciben NE	2/41 (4,9%)	0/84 (0%)	3/41 (7,3%)	10/84 (1,2%)
Día 28	Toda la población	1/43 (2,3%)	0/85 (0%)	7/43 (16,3%)	9/85 (10,5%)
	Sólo los que reciben NE	1/39 (2,5%)	0/84 (0%)	7/39 (17,9%)	9/76 (11,8%)
36s EPM	Toda la población	1/43 (2,3%)	0/85 (0%)	1/43 (2,3%)	0/85 (0%)
	Sólo los que reciben NE	1/37 (2,7%)	0/55 (0%)	1/37 (2,7%)	0/85 (0%)

Abreviaturas: NE: nutrición enteral, s: semanas, EPM: edad postmenstrual. Los valores son número (%). Los porcentajes están calculados sobre el número de pacientes en cada grupo y sobre el número de pacientes que recibieron NE.

1.3. SOPORTE NUTRICIONAL

Durante el periodo 2, encontramos que el inicio de la NE ocurrió alrededor de medio día antes en comparación con el periodo 1 ($2,6 \pm 1,1$ vs $2,1 \pm 1,0$ días, $p=0,001$). Del mismo modo, el porcentaje de niños en ayunas durante el primer y segundo día de vida fue menor en el periodo 2 (86,9% vs 76,6%, $p=0,049$ y 45,5% vs 21,1%, $p<0,001$

respectivamente), sin impacto posterior en los días en los que se logró alcanzar la NE total, días de nutrición parenteral o los volúmenes de leche administrados la 1ª y 2ª semana de vida o el día 28 (Figura 6). Hay una tendencia a un mayor porcentaje de pacientes que recibieron sólo LH los días 14 y 28 de vida tras la introducción de LD (65,2% vs 76,9%, $p=0,066$ y 62,9% vs 75,2%, $p=0,065$ respectivamente). Esto es significativo para los RN < 28 semanas el día 14 (75,0% vs 100,0%, $p=0,004$).

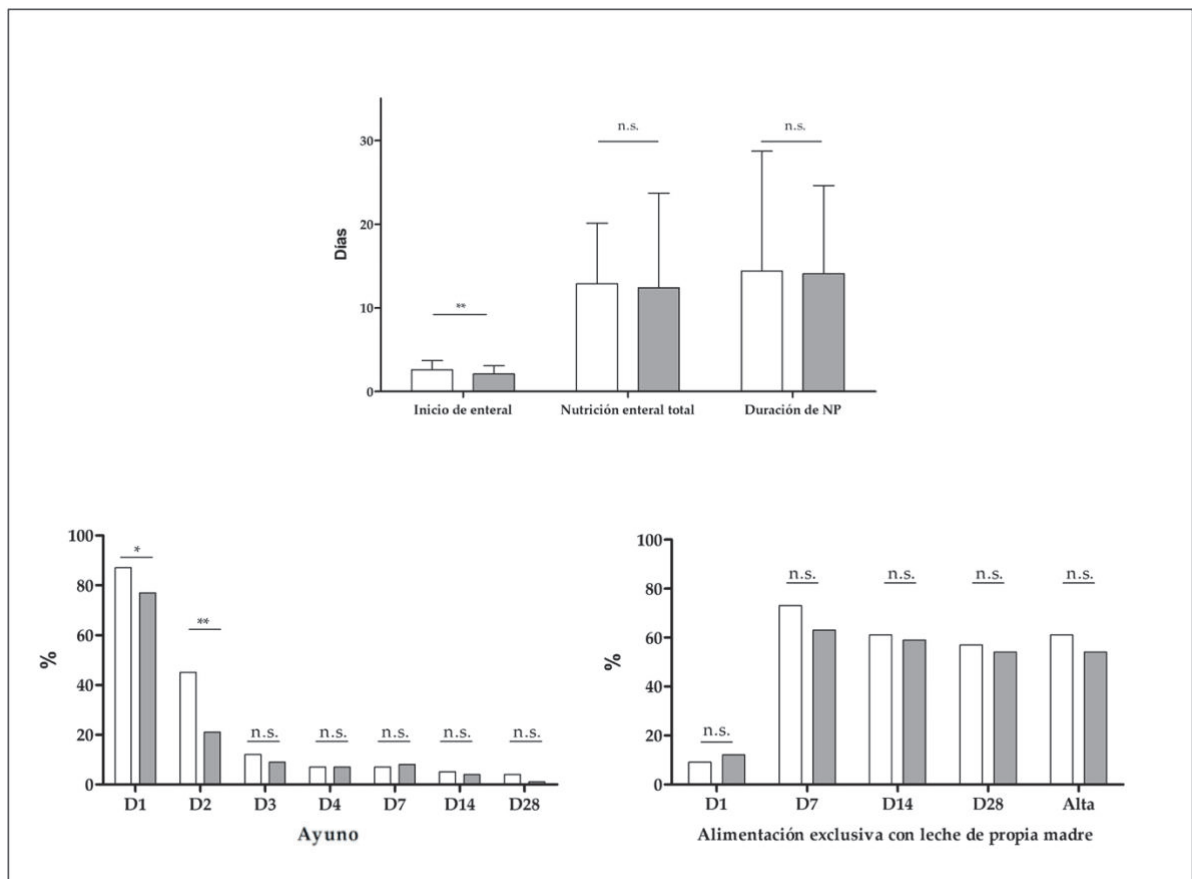


Figura 6. Resumen de las características nutricionales de los pacientes del periodo 1 (blanco) y el periodo 2 (gris). * $p<0,05$; ** $p<0,001$; n.s.: no significativo ($p>0,05$).
Abreviaturas: NP: Nutrición parenteral, D: día

El porcentaje de RN que recibieron leche de propia madre fue similar en ambos periodos (*Figura 6*), con una tasa de leche de propia madre exclusiva al alta del 60,6% en el periodo 1 y 53,9% en el periodo 2 ($p=0,312$).

El soporte nutricional durante las dos primeras semanas, expresado como valor promedio semanal (suma de los diferentes aportes diarios durante una semana y dividido entre siete) se recoge en la *Tabla 11*. Se encontró que, durante la primera semana, el volumen de nutrición parenteral recibido fue mayor en el periodo 1, pero con similares aportes de macronutrientes, excepto en relación con el aporte lipídico procedente de la nutrición parenteral, que fue mayor en el periodo 2. Esto no se relacionaba con diferencias en el aporte enteral entre los dos periodos. A partir de la segunda semana de vida la nutrición recibida fue homogénea en los dos periodos.

Tabla 11. Soporte nutricional promedio durante las dos primeras semanas.

	Periodo 1 (n=99)	Periodo 2 (n=128)	p
Volumen NP 1ª semana (ml/kg/día)	83,2 ± 19,3	75,7 ± 15,6	0,001
Proteínas NP 1ª semana (g/kg/día)	2,5 ± 0,7	2,6 ± 0,5	0,114
Hidratos de carbono NP 1ª semana (g/kg/día)	9,6 ± 2,3	9,8 ± 2,1	0,621
Lípidos NP 1ª semana (g/kg/día)	1,6 ± 0,7	1,9 ± 0,6	0,014
Calorías NP 1ª semana (Kcal/kg/día)	62,9 ± 17,0	66,0 ± 13,4	0,137
Volumen NP 2ª semana (ml/kg/día)	42,9 ± 41,8	39,7 ± 37,8	0,545
Proteínas NP 2ª semana (g/kg/día)	1,2 ± 1,2	1,1 ± 1,1	0,573
Hidratos de carbono NP 2ª semana (g/kg/día)	5,4 ± 5,3	4,8 ± 4,6	0,355
Lípidos NP 2ª semana (g/kg/día)	0,9 ± 1,1	0,9 ± 1,0	0,936
Calorías NP 2ª semana (Kcal/kg/día)	33,5 ± 34,4	30,6 ± 30,9	0,508
Volumen NE 1ª semana (ml/kg/día)	21,4 ± 20,2	20,6 ± 15,8	0,763
Volumen NE 2ª semana (ml/kg/día)	93,4 ± 52,3	96,6 ± 51,2	0,646
Calorías NE 1ª semana (Kcal/kg/día)	15,5 ± 14,9	15,0 ± 11,7	0,750
Calorías NE 2ª semana (Kcal/kg/día)	73,1 ± 42,2	76,3 ± 42,3	0,577

Abreviaturas: NP: Nutrición parenteral, NE: Nutrición enteral. Los valores son media ± DE.

1.4. CRECIMIENTO DURANTE EL INGRESO

La *tabla 12* recoge los resultados del análisis del crecimiento de la población a estudio en ambos periodos, así como un subanálisis por grupos de EG (≤ 28 semanas y >28 semanas). No hubo diferencias entre ambos periodos en la edad en la que se alcanzó este peso mínimo o los días de vida en los que los RNMP recuperaron el peso al nacimiento. La caída de z-score de peso a los 28 días de vida fue menor en el periodo 2, pero sin cambios a las 36 semanas de EPM o al alta. Si analizamos los resultados por EG al nacimiento (≤ 28 semanas o > 28 semanas) objetivamos que la diferencia entre periodos en el porcentaje máximo de pérdida de peso tras el nacimiento se mantiene significativa en el grupo de más prematuros, sin serlo en el grupo de pacientes de 28 a 32 semanas de EG al nacimiento. En cuanto a la caída de z-score de peso a los 28 días sólo se mantiene la significación estadística en el grupo de pacientes de 28 a 32 semanas de EG al nacimiento, aunque la tendencia está presente también en los niños más inmaduros, sin diferencias en el resto de los puntos temporales ni parámetros. Al analizar las mismas variables por sexos encontramos que la dirección de las diferencias entre períodos eran similares a las observadas en la muestra completa, pero solo alcanzaban significación estadística en cuanto a un menor porcentaje de pérdida de peso máxima tras el nacimiento en el sexo femenino en el periodo 2 y a la caída de z-score de peso a los 28 días de vida en los pacientes de sexo masculino (*Tabla 13*).

En el análisis multivariante mediante regresión lineal, el periodo en el que el paciente nace es uno de los determinantes para la caída de z-score a los 28 días de vida tras ser ajustado por factores de confusión (*Tabla 14*).

Tabla 12. Parámetros de crecimiento de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2.

	Muestra completa			≤28 semanas			>28 semanas		
	Periodo 1 (n=99)	Periodo 2 (n=128)	P	Periodo 1 (n=26)	Periodo 2 (n=42)	P	Periodo 1 (n=73)	Periodo 2 (n=85)	P
Edad de peso mínimo (días)	3,8 ± 1,6	3,9 ± 1,5	0,612	3,9 ± 1,8	4,2 ± 1,7	0,517	3,8 ± 1,6	3,8 ± 1,4	0,982
% de pérdida de peso	11,4 ± 5,1	9,2 ± 8,6	0,026	13,8 ± 6,0	7,8 ± 5,5	<0,001	10,6 ± 4,5	10,0 ± 9,8	0,617
Edad de recuperación del peso al nacimiento (días)	11,1 ± 4,1	10,4 ± 5,1	0,287	11,5 ± 5,6	10,8 ± 6,9	0,663	11,0 ± 3,4	10,3 ± 3,9	0,230
Caída en z-score de peso:									
Del nacimiento a los 28 ddv	-1,18 ± 0,4	-0,96 ± 0,7	0,003	-1,33 ± 0,6	-0,91 ± 0,9	0,055	-1,13 ± 0,3	-0,98 ± 0,5	0,023
Del nacimiento a las 36 s de EPM	-1,69 ± 0,8	-1,64 ± 0,7	0,652	-2,31 ± 0,9	-2,04 ± 0,8	0,217	-1,43 ± 0,5	-1,38 ± 0,5	0,588
Del nacimiento al alta	-1,42 ± 0,8	-1,42 ± 0,8	0,951	-1,96 ± 1,0	-1,86 ± 1,0	0,692	-1,23 ± 0,6	-1,21 ± 0,6	0,793

Abreviaturas: Ddv: días de vida, s: semanas, EPM: edad posmenstrual. Los valores son media ± DE.

Tabla 13. Parámetros de crecimiento de los pacientes del periodo 1 y el periodo 2 comparados por sexos.

	Masculino			Femenino		
	Periodo 1 (n=56)	Periodo 2 (n=69)	p	Periodo 1 (n=43)	Periodo 2 (n=59)	p
Edad de peso mínimo (días)	3,8 ± 1,6	4,0 ± 1,6	0,428	3,8 ± 1,7	3,8 ± 1,4	0,913
% de pérdida de peso	11,4 ± 5,5	9,8 ± 10,7	0,318	11,4 ± 4,5	8,5 ± 5,2	0,004
Edad de recuperación del peso al nacimiento (días)	10,3 ± 4,2	10,9 ± 5,9	0,664	11,4 ± 3,7	9,8 ± 4,6	0,163
Caída en z-score de peso:						
Del nacimiento a los 28 ddv	-1,23 ± 0,4	-0,99 ± 0,6	0,016	-1,13 ± 0,4	-0,92 ± 0,7	0,107
Del nacimiento a las 36 semanas de EPM	-1,70 ± 0,8	-1,62 ± 0,7	0,608	-1,68 ± 0,7	-1,66 ± 0,7	0,930
Del nacimiento al alta	-1,35 ± 0,8	-1,40 ± 0,8	0,729	-1,50 ± 0,7	-1,45 ± 0,8	0,746

Abreviaturas: Ddv: días de vida, EPM: edad posmenstrual. Los valores son media ± DE.

Tabla 14. Modelo de regresión lineal de la caída de z score de peso a los 28 días de vida en los periodos 1 y 2.

Para elegir el modelo se empleó el método de pasos hacia atrás con un punto de corte de significación estadística de 0,1. Después de tener en cuenta los factores clínicos y nutricionales que influyen en el crecimiento (edad gestacional, sexo, necesidad de oxígeno durante el ingreso, CIR, aporte de líquidos durante la primera semana, promedio de proteínas y lípidos en la NP durante la primera semana), sólo el ser CIR, el aporte de lípidos intravenosos durante la 1ª semana y el periodo de estudio se asociaron de manera independiente con la caída de z-score de peso a los 28 días de vida.

Resumen del modelo de coeficientes	R-cuadrado ajustada	p	Variables en la ecuación	Coefficiente B ajustado (IC 95)	p
Paso 3	0,184	<0,0001	CIR Promedio de lípidos en NP Periodo	-0,336 (-0,654, -0,293) 0,269 (0,064; 0,362) 0,254 (0,119; 0,378)	<0,0001 0,005 <0,0001

Abreviaturas: CIR: crecimiento intrauterino retardado, NP: nutrición parenteral

1.5. DESENLACES CLÍNICOS

No encontramos diferencias entre ambos periodos en cuanto al soporte respiratorio, incidencia de DBP, ROP grave o hemorragia intraventricular. La incidencia de sepsis tardía fue similar en ambos periodos, así como los días de tratamiento antibiótico, vía central y nutrición parenteral (*Tabla 15*). La incidencia de ECN tuvo una tendencia a ser menor en el periodo 2 (9,1% vs 3,4%, $p=0,055$), siendo esta diferencia significativa en el grupo de pacientes entre 28 y 32 semanas de EG al nacimiento (5,5 vs 0,0%, $p=0,044$). La ECN quirúrgica también fue más frecuente en el periodo 1 (5,1 vs 0,8%, $p=0,088$) siendo igualmente significativa en aquellos pacientes que nacieron entre las 28 y 32 semanas de EG, donde destaca que todos los casos de ECN fueron quirúrgicos. Un análisis del riesgo de ECN en ambos periodos incluyendo posibles factores de confusión muestra que la probabilidad de sufrir ECN era 4 veces mayor antes de la introducción de LD (*Tabla 16*). La mortalidad después de la primera semana fue similar en ambos periodos (4,0% vs 5,5%, $p=0,619$), existiendo una tendencia a que la mortalidad sea relacionada con ECN en mayor proporción en el periodo 1 (75% vs 14,3%, $p=0,088$). No se encontraron diferencias al analizar los resultados clínicos en cada periodo en función del sexo (*Tabla 17*).

Tabla 15. Comparación de las variables clínicas entre el periodo 1 y el periodo 2.

Variables clínicas	Muestra completa			Edad gestacional ≤ 28 semanas			Edad gestacional > 28 semanas		
	Periodo 1 (n=99)	Periodo 2 (n=128)	p	Periodo 1 (n=26)	Periodo 2 (n= 43)	P	Periodo 1 (n=73)	Periodo 2 (n= 85)	P
Días de VM	6,4 ± 15,4	5,6 ± 10,8	0,651	21,2 ± 24,7	13,2 ± 13,8	0,141	1,1 ± 2,4	1,7 ± 5,9	0,401
Días de VNI	18,4 ± 21,6	21,3 ± 23,2	0,339	41,9 ± 26,3	42,3 ± 24,0	0,943	10,1 ± 11,1	10,7 ± 13,7	0,761
Días de oxígeno	16,8 ± 33,0	16,3 ± 30,0	0,915	50,1 ± 49,0	42,6 ± 38,6	0,485	4,9 ± 10,4	3,0 ± 8,8	0,218
Días de antibióticos	10,8 ± 12,7	12,7 ± 12,9	0,267	24,4 ± 17,7	23,8 ± 14,4	0,884	6,0 ± 4,6	7,1 ± 7,2	0,253
Días de CVC	14,4 ± 14,3	14,1 ± 10,5	0,864	25,0 ± 21,8	21,7 ± 12,2	0,420	9,4 ± 5,8	10,4 ± 5,0	0,247
DAP	44/99 (44,4%)	57/128 (44,5%)	0,990	21/26 (80,8%)	31/43 (72,1%)	0,418	23/73 (31,5%)	26/59 (30,6%)	0,901
Quirúrgico	16/99 (16,2%)	11/128 (8,6%)	0,081	13/26 (50%)	10/43 (23,3%)	0,022	3/73 (4,1%)	1/85 (1,2%)	0,336
ECN	9/99 (9,1%)	4/128 (3,1%)	0,055	5/26 (19,2%)	4/43 (9,3%)	0,282	4/73 (5,5%)	0/85 (0%)	0,044
ECN quirúrgica	5/99 (5,1%)	1/128 (0,8%)	0,088	1/26 (3,8%)	1/43 (2,3%)	1,000	4/73 (5,5%)	0/85 (0%)	0,044
Sepsis tardía	18/99 (18,2%)	27/128 (21,1%)	0,585	14/26 (53,8%)	22/43 (51,2%)	0,829	4/73 (5,5%)	5/73 (5,9%)	0,913
DBP	21/96 (21,9%)	28/124 (22,6%)	0,901	15/24 (62,5%)	25/39 (64,1%)	0,898	6/72 (8,3%)	3/85 (3,5%)	0,172
ROP (Cualquier estadio)	27/87 (31%)	43/113 (38,1%)	0,302	19/23 (82,6%)	26/40 (65,0%)	0,136	8/64 (12,5%)	17/56 (23,3%)	0,103
ROP grave	5/81 (6,2%)	6/112 (5,4%)	0,809	5/23 (21,7%)	6/39 (15,4%)	0,732	0/58 (0%)	0/73 (0%)	-
HIV (grado III-IV)	6/99 (6,1%)	12/128 (9,4%)	0,359	6/26 (23,1%)	9/43 (20,9%)	0,834	0/73 (0%)	3/85 (3,5%)	0,250
Éxitus	4/99 (4,0%)	7/128 (5,5%)	0,619	3/26 (11,5%)	6/43 (14,0%)	1,000	1/73 (1,4%)	1/85 (1,2%)	1,000

Abreviaturas: VM: ventilación mecánica, VNI: ventilación no invasiva, CVC: catéter venoso central, DAP: ductus arterioso persistente, ECN: enterocolitis necrosante, DBP: displasia broncopulmonar, ROP: retinopatía de la prematuridad, HIV: hemorragia intraventricular. Los valores son media ± DE o número (%).

Tabla 16. Resultados del análisis de regresión logística binaria del riesgo de Enterocolitis necrosante.

Para elegir el modelo se empleó el método de pasos hacia atrás con un punto de corte de significación estadística de 0,1. Después de tener en cuenta los factores clínicos que influyen en el riesgo de Enterocolitis necrosante (edad gestacional, PEG, días de ventilación mecánica, días de oxígeno, tratamiento quirúrgico para el ductus arterioso persistente, cesárea y tanda completa de corticoides), sólo EG, PEG y el periodo de estudio se asociaron de manera independiente con un aumento de riesgo de Enterocolitis necrosante.

Resumen del modelo de coeficientes	R-cuadrado de Nagelkerke	p	Variables en la ecuación	Coefficiente B ajustado (IC 95)	p
Paso 6	0,256	<0,001	Edad gestacional (semanas)	0,650 (0,496- 0,851)	0,002
			Periodo	4,026 (1,091- 14,847)	0,036
			PEG	8,634 (1,986- 37,535)	0,004
			Constante	4089,125	0,026

Abreviaturas: PEG: pequeño para la edad gestacional.

Tabla 17. Comparación de las variables clínicas entre sexos en el periodo 1 y el periodo 2.

Variables clínicas	Masculino			Femenino		p
	Periodo 1 (n=56)	Periodo 2 (n=69)	p	Periodo 1 (n=43)	Periodo 2 (n=59)	
Días de VM	6,0 ± 14,2	5,8 ± 11,4	0,796	6,8 ± 16,3	5,4 ± 10,0	0,579
Días de VNI	20,5 ± 23,5	22,5 ± 24,1	0,911	15,8 ± 18,7	19,9 ± 22,4	0,332
Días de oxígeno	17,0 ± 30,4	15,2 ± 26,9	0,725	16,5 ± 36,5	17,7 ± 33,4	0,867
Días de antibióticos	11,2 ± 12,6	13,7 ± 13,0	0,297	10,2 ± 13,0	11,6 ± 12,7	0,598
Días de CVC	13,4 ± 14,3	14,9 ± 10,4	0,508	13,7 ± 13,7	13,5 ± 8,9	0,923
DAP	25/56 (44,6%)	31/69 (44,9%)	1,000	19/43 (44,2%)	26/59 (44,1%)	1,000
Quirúrgico	8/56 (14,3%)	6/69 (8,7%)	0,420	8/43 (18,6%)	5/59 (8,5%)	0,145
ECN	5/56 (8,9%)	3/69 (4,3%)	0,465	4/43 (9,3%)	1/59 (1,7%)	0,159
ECN quirúrgica	4/56 (7,1%)	1/69 (1,4%)	0,172	1/43 (2,3%)	0/59 (0,0%)	0,422
Sepsis tardía	13/56 (23,2%)	17/69 (24,6%)	1,000	5/43 (11,6%)	10/59 (16,9%)	0,576
DBP	13/54 (24,1%)	14/66 (21,2%)	0,827	8/42 (19,0%)	14/58 (24,8%)	0,629
ROP (Cualquier estadio)	16/49 (32,7%)	22/61 (36,1%)	0,840	11/38 (28,9%)	21/52 (40,4%)	0,373
HIV (grado III-IV)	4/56 (7,1%)	8/69 (11,6%)	0,861	2/43 (4,7%)	4/59 (6,8%)	0,170
Éxito	3/56 (5,4%)	5/69 (7,2%)	0,730	1/43 (2,3%)	2/59 (3,4%)	1,000

Abreviaturas: VM: ventilación mecánica, VNI: ventilación no invasiva, CVC: catéter venoso central, DAP: ductus arterioso persistente, ECN: enterocolitis necrosante, DBP: displasia broncopulmonar, ROP: retinopatía de la prematuridad, HIV: hemorragia intraventricular. Los valores son media ± DE o número (%).

2. ANÁLISIS POR EXPOSICIÓN (SEGÚN EL PORCENTAJE DE LECHE HUMANA RECIBIDA)

2.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Un total de 256 RNMP ingresaron en nuestra unidad el primer día de vida. De ellos, 55 pacientes presentaban alguno de los criterios de exclusión predefinidos para este análisis, quedando un total de 201: 151 pertenecían al grupo 1 ($\geq 75\%$ de LH) y 50 al grupo 2 ($<75\%$ de LH) (*Figura 7*). Las características basales de la muestra quedan resumidas en la *tabla 18*. Los pacientes del grupo 1 eran más prematuros, de menor peso al nacimiento y estaban más graves (puntuaciones más altas en el índice CRIB). Destaca también un mayor número de gestaciones múltiples en el grupo 2.

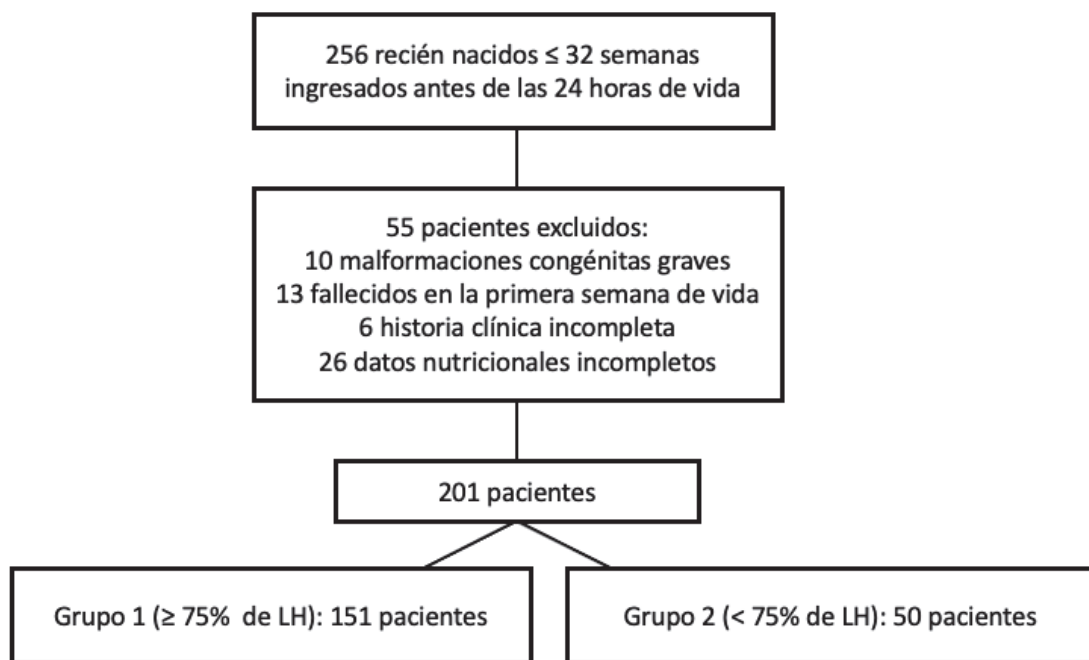


Figura 7. Diagrama de flujo de los pacientes del segundo análisis (análisis por grupos de exposición).

Tabla 18. Comparación de las características basales de los pacientes del grupo 1 y grupo 2.

	≥ 75% LH (n=151)	<75% LH (n=50)	p
Edad gestacional (semanas)	28,9 ± 2,3	30,6 ± 1,2	< 0,0001
Peso al nacimiento (g)	1168 ± 351	1417 ± 328	< 0,0001
Índice de CRIB	2,7 ± 2,8	1,2 ± 1,7	< 0,0001
Sexo (masculino)	86 (57)	26 (52,0)	0,623
CIR	22 (14,6)	6 (12,0)	0,815
PEG	13 (8,6)	2 (4,0)	0,366
Gestación múltiple	49 (32,5)	28 (56,0)	0,004
Cesárea	100 (66,2)	26 (52,0)	0,091
Corticoides prenatales (2 o más dosis)	92 (60,9)	33 (66,0)	0,300

Abreviaturas: CRIB: Clinical Risk Index for Babies, CIR: crecimiento intrauterino retardado, PEG: pequeño para la edad gestacional, LH: leche humana. Los valores son media ± DE o número (%).

2.2. SOPORTE NUTRICIONAL

En la *tabla 19* mostramos un análisis detallado del soporte nutricional recibido en los dos grupos de estudio. Observamos que los pacientes del grupo 1 inician antes la NE (aproximadamente medio día) que los del grupo 2, pero, en cambio, reciben más días de nutrición parenteral y tardan más tiempo en alcanzar la NE total. A los 28 días de vida más RN del grupo 1 recibían aún nutrición parenteral (13,3% vs 0%, p=0,006) y consecuentemente el volumen de NE fue menor, aunque con una cantidad media superior a 140 mL/kg/día en ambos grupos (*Tabla 19*). La ventaja en el inicio precoz de la enteral en el grupo que recibe más LH (grupo 1) persiste tras ajustar los resultados por EG, mientras que las demás diferencias desaparecen. Tampoco encontramos diferencias en el volumen y calorías recibidos las 2 primeras semanas de vida. Acorde con la caracterización de los grupos de estudio, encontramos diferencias en el tipo de NE recibida durante los primeros 28 días de vida. Esto es a expensas de las diferencias en el porcentaje de leche de propia madre recibido por cada grupo, que es de casi un 95% de la NE en los pacientes del grupo 1 y de menos del 30% en el grupo 2 (*Tabla 19*).

Tabla 19. Características del soporte nutricional de ambos grupos. Ajustado por edad gestacional.

	Grupo 1 ≥ 75% LH (n=151)	Grupo 2 <75% LH (n=50)	p	Coficiente β ajustado por EG (IC 95)	p
Edad al inicio de la NE (días)	2,1 ± 0,9	2,7 ± 1,2	<0,0001	-0,265 (-0,969; -0,297)	0,001
Edad al alcanzar la NE total (días)	13,5 ± 9,2	11,5 ± 6,2	0,150	-0,065 (-3,930; 1,351)	0,337
Días de NP	15,3 ± 12,3	12,3 ± 4,2	<0,0001	0,000 (-2,990; 3,005)	0,996
NP 1ª semana (ml/kg/día)	80,1 ± 16,2	79,8 ± 16,6	0,901	-0,037 (-6,937; 4,148)	0,620
NE 1ª semana (ml/kg/día)	19,4 ± 15,4	24,0 ± 16,4	0,069	0,028 (-3,811; 5,844)	0,678
Calorías 1ª semana (kcal/kg/día)*	80,3 ± 9,0	81,0 ± 8,3	0,639	-0,018 (-3,394; 2,674)	0,815
NP 2ª semana (ml/kg/día)	43,7 ± 39,5	30,2 ± 36,0	0,034	-0,024 (-13,639; 9,395)	0,717
NE 2ª semana (ml/kg/día)	91,4 ± 50,8	110,6 ± 45,7	0,018	0,022 (-11,822; 16,842)	0,730
Calorías 2ª semana (kcal/kg/día)*	106,0 ± 14,1	111,3 ± 12,8	0,020	-0,010 (-4,541; 3,922)	0,885
NE día 28 (ml/kg/día)	145,4 ± 44,1	159,5 ± 19,6	0,002	0,000 (-12,453; 11,967)	0,969
NE al alta (ml/kg/día)	162,2 ± 34,0	168,8 ± 14,3	0,056	0,013 (-11,049; 9,199)	0,857
% leche de propia madre durante los primeros 28 días	94,0 ± 13,9	28,2 ± 23,0	<0,0001	0,881 (61,337; 72,629)	<0,0001
% LD durante los primeros 28 días	4,5 ± 13,6	4,0 ± 9,9	0,764	-0,050 (-5,768; 2,837)	0,503

(*) suma del aporte calórico NE +NP. Abreviaturas: Ddv: días de vida, NE: Nutrición enteral, NP: Nutrición parenteral, LD: Leche de donante. Los valores son media ± DE.

2.3. CRECIMIENTO DURANTE EL INGRESO

El peso, longitud y perímetro cefálico fue menor en los pacientes del grupo 1 al nacimiento y a los 14 días de vida, pero no encontramos diferencias en los z-scores correspondientes (Tabla 20). A partir de ese punto, ambos parámetros, peso y z-score de peso (a los 28 días de vida, 36 semanas de EPM y alta) fueron menores en el grupo 1 (Figura 8). El z-score de longitud y z-score de perímetro cefálico al alta fueron también menores en el grupo 1, aunque no los valores absolutos (Tabla 20). La caída de z-score de peso desde el nacimiento a las 36 semanas de EPM y desde el nacimiento al alta también fue mayor en el grupo 1 (Tabla 21 y Figura 9), así como la prevalencia de FCP a las 36 semanas de EPM (73,6% vs 25,6%, $p < 0,0001$), incluso tras ajustar por EG, índice CRIB, días de ventilación mecánica y disponibilidad de LD (OR para el FCP a las 36 semanas de EPM: 6,427, 95% CI: 2,659-15,534, $p < 0,0001$).

Tabla 20. Parámetros de crecimiento de los pacientes del grupo 1 y grupo 2.

	Grupo 1 ≥ 75% LH (n=151)	Grupo 2 <75% LH (n=50)	p
Nacimiento			
Peso (g)	1168 ± 351	1417 ± 328	< 0,0001
Z-score peso	0,13 ± 1,1	0,14 ± 1,1	0,994
Longitud (cm)	37,2 ± 3,9	39,0 ± 3,2	0,001
Z-score longitud	-0,21 ± 1,0	-0,33 ± 1,0	0,443
Perímetro cefálico (cm)	25,8 ± 2,8	27,5 ± 1,5	< 0,0001
Z-score perímetro cefálico	-0,26 ± 0,9	-0,16 ± 0,9	0,523
Día 14 de vida			
Peso (g)	1231 ± 359	1496 ± 334	< 0,0001
Z-score peso	-0,90 ± 0,8	-0,82 ± 0,8	0,546
Día 28 de vida			
Peso (g)	1474 ± 458	1905 ± 426	< 0,0001
Z-score peso	-1,25 ± 0,9	-0,92 ± 0,9	0,025
36 semanas EPM			
Peso (g)	1855 ± 341	2155 ± 328	< 0,0001
Z-score peso	-2,09 ± 0,9	-1,31 ± 0,9	< 0,0001
Alta			
EG al alta	38,1 ± 2,7	36,8 ± 1,6	< 0,0001
Peso (g)	2225 ± 358	2348 ± 358	0,037
Z-score peso	-1,72 ± 1,0	-0,89 ± 1,0	< 0,0001
Longitud (cm)	44,9 ± 2,2	45,3 ± 2,1	0,294
Z-score longitud	-1,76 ± 1,5	-0,95 ± 1,3	< 0,0001
Perímetro cefálico (cm)	32,4 ± 1,8	32,3 ± 1,5	0,740
Z-score perímetro cefálico	-0,55 ± 1,3	-0,11 ± 1,0	0,025

Abreviaturas: EPM: edad posmenstrual; EG: edad gestacional. Los valores son media ± DE.

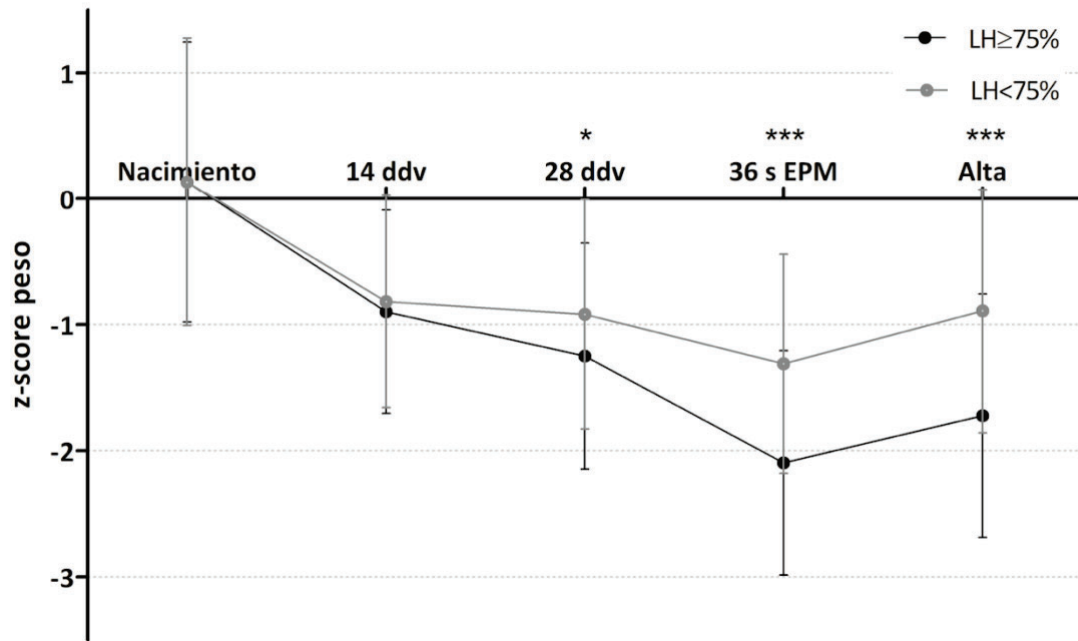


Figura 8. Evolución del z-score de peso durante el ingreso.

Los círculos representan la media en cada punto y la barra de error la desviación estándar.

* $p < 0,05$ *** $p < 0,0001$. Abreviaturas: EPM: edad posmenstrual, LH: leche humana.

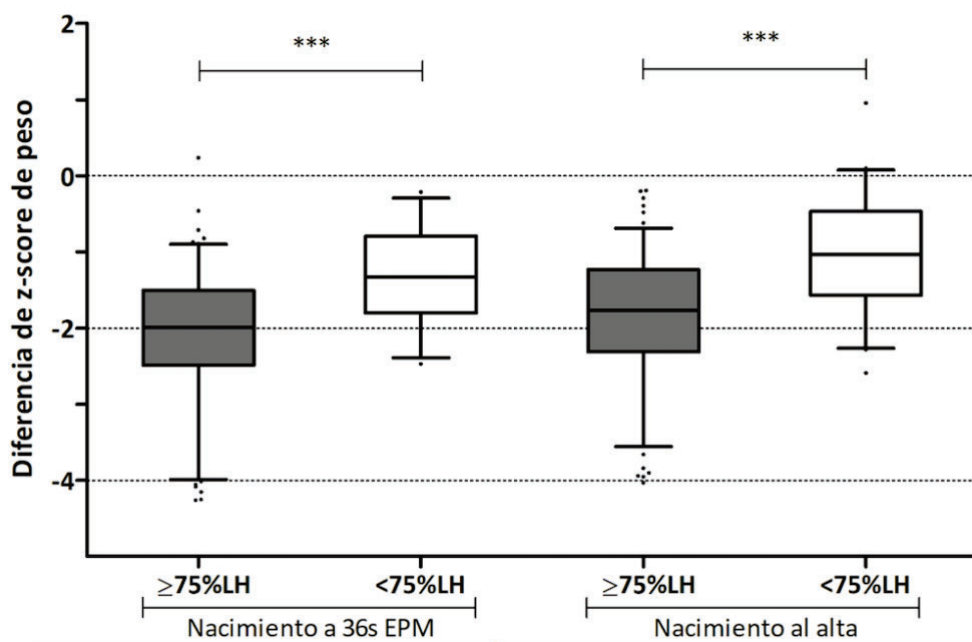


Figura 9. Caída de z-score de peso desde el nacimiento hasta las 36 semanas de edad posmenstrual y desde el nacimiento hasta el alta en los dos grupos.

Los límites de las cajas representan el percentil 25 y el 75 y las barras de error el percentil 5 y el 95. *** $p < 0,0001$. Abreviaturas: EPM: edad posmenstrual, LH: leche humana.

Tabla 21. Influencia del porcentaje de LH recibida los primeros 28 días de vida en el crecimiento durante el ingreso tras ajustar por factores de confusión.

Cambios en el z-score de medidas antropométricas					
	Grupo 1 (N= 151)	Grupo 2 (N= 50)	P	Coefficiente B ajustado (IC 95)*	P
Diferencia en el z-score de peso entre el nacimiento y las 36 semanas de EPM	-2,13 ± 0,9	-1,30 ± 0,6	<0,0001	-0,247 (-0,732; -0,202)	<0,0001
Diferencia en el z-score de peso entre el nacimiento y el alta	-1,84 ± 0,8	-1,03 ± 0,7	<0,0001	-0,244 (0,710; 0,253)	<0,0001
Diferencia en el z-score de longitud entre el nacimiento y el alta	-1,41 ± 1,1	-0,62 ± 1,0	<0,0001	-0,170 (-0,757; -0,094)	0,012
Diferencia en el z-score de perímetro cefálico entre el nacimiento y el alta	-0,26 ± 1,1	0,05 ± 1,0	0,070	-0,126 (-0,638; 0,047)	0,091
Proporciones corporales					
	Grupo 1 (N= 151)	Grupo 2 (N= 50)	P	Coefficiente B ajustado (IC 95)*	P
Relación peso/longitud					
Nacimiento (kg/m)	3,09 ± 0,7	3,59 ± 0,6	<0,0001	-	-
Alta (kg/m)	4,94 ± 0,6	5,17 ± 0,5	0,022	-0,257 (-0,527; -0,203)	<0,0001
Z-score al alta	-1,83 ± 0,9	-1,11 ± 0,8	<0,0001	-0,260 (-0,831; -0,277)	<0,0001
Diferencia entre los z-scores de perímetro cefálico y peso (perímetro cefálico-peso)					
Nacimiento	-0,40 ± 0,8	-0,30 ± 0,6	0,404	-	-
Alta	1,17 ± 1,0	0,78 ± 0,9	0,022	0,103 (-0,067; 0,515)	0,130

*Resultados ajustados por factores de confusión: Edad Gestacional, índice *Clinical Risk Index For Babies* (CRIB), días de ventilación mecánica, disponibilidad de LD y días de vida al alta. Abreviaturas: EPM: edad posmenstrual, IMC: Índice de masa corporal. Los valores son media ± DE o números (%).

La relación peso/longitud al nacimiento y al alta y el z-score de la relación peso/longitud al alta fue menor en los pacientes del grupo 1 (*Tabla 21*), al hacer un análisis ajustado por factores de confusión, encontramos, que la diferencia continúa siendo significativa (*Tabla 21*).

El z-score de peso y de perímetro cefálico fueron similares en ambos grupos al nacimiento (*Tabla 20*) y disminuyeron a lo largo del ingreso, de forma más acusada en el grupo que recibía más leche humana. La preservación del crecimiento del perímetro cefálico en comparación con la evolución del peso, al medirla como la diferencia entre las puntuaciones z de ambos (PC-peso) en el momento del alta, fue más acusada en el grupo 1 (*Figura 10 y 11, Tabla 21*). Esta tendencia desaparece cuando ajustamos por factores de confusión, principalmente por la edad cronológica (*Tabla 21*).

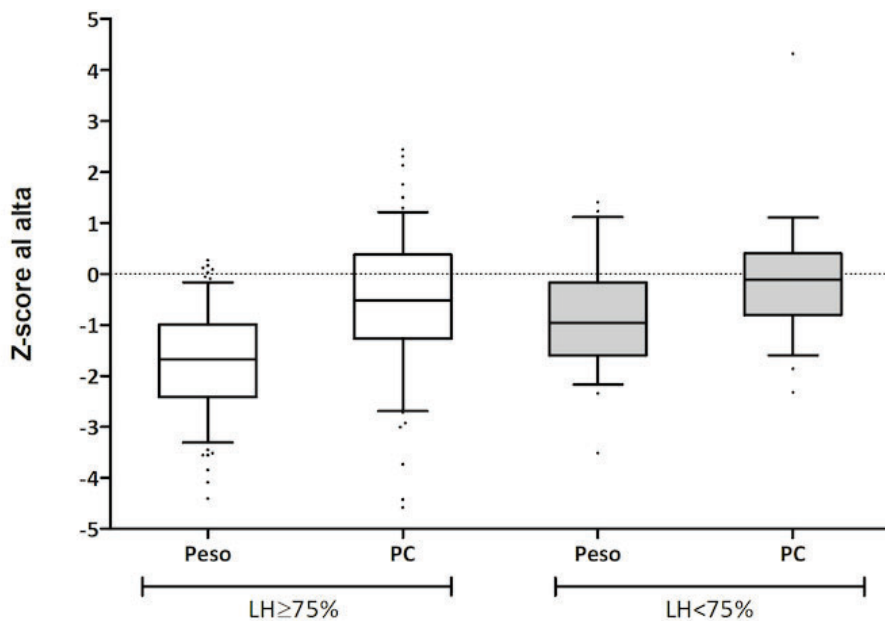


Figura 10. Comparación del z-score de peso y perímetro cefálico al alta.

Abreviaturas: LH: leche humana, PC: perímetro cefálico.

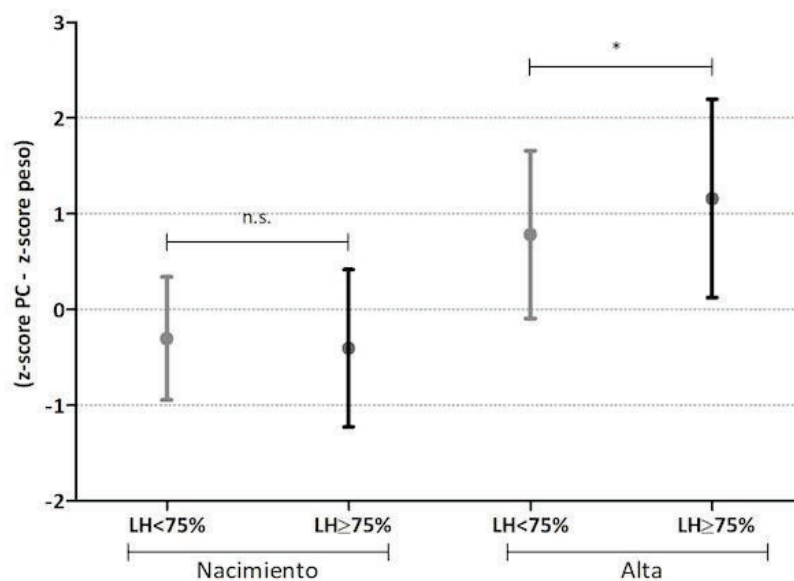


Figura 11. Diferencia de z-score entre el perímetro cefálico y el peso al nacimiento y al alta.

Abreviaturas: LH: leche humana, PC: perímetro cefálico.

2.4. DESENLACES CLÍNICOS

Los pacientes del grupo 1 fueron más inmaduros y estuvieron más graves las primeras horas de vida (índice CRIB) (Tabla 18). Además, tuvieron un curso clínico más complicado (Tabla 22), precisando más tiempo de soporte respiratorio, así como más días de vía central y nutrición parenteral. La incidencia de DBP, ROP, hemorragia intraventricular grave, sepsis tardía y días de antibióticos también fue mayor, sin diferencias en la incidencia de ECN o *éxitus* (Tabla 22). Estas diferencias en las complicaciones durante el ingreso entre el grupo 1 y el grupo 2 desaparecen tras ajustar el análisis de las variables clínicas por EG (Tabla 22).

Tabla 22. Comparación de las variables clínicas entre el grupo 1 y el grupo 2. Ajustado por edad gestacional.

	Grupo 1 (n=151)	Grupo 2 (n=50)	p		p ajustada
Coefficiente B ajustado por EG (IC 95)					
Días de VM	6,73 ± 13,5	1,47 ± 3,78	< 0,0001	-0,007 (-3,550; 3,190)	0,916
Días de VNI	24,42 ± 24,1	9,84 ± 14,0	<0,0001	0,032 (-3,579; 6,982)	0,527
Días de oxígeno	20,14 ± 33,3	4,74 ± 13,2	<0,0001	0,013 (-7,245; 9,011)	0,831
Días de antibióticos	14,01 ± 13,8	6,16 ± 4,6	<0,0001	0,040 (-1,924; 4,235)	0,460
Días de CVC	15,23 ± 12,5	9,82 ± 3,9	< 0,0001	0,023 (-2,592; 3,761)	0,717
Días de NP	15,34 ± 12,3	10,08 ± 4,2	<0,0001	0,000 (-2,990; 3,005)	0,996
Odds ratio (IC 95)					
ROP (cualquier estadio)	55/143 (38,5)	10/42 (23,8)	0,090	1,283 (0,519; 3,171)	0,590
DBP	41/150 (27,3)	4/50 (8,0)	0,003	1,000 (0,474; 2,108)	0,999
DAP	72/151 (47,7)	16/50 (32,0)	0,070	1,215 (0,325; 4,539)	0,772
Sepsis tardía	38/151 (25,2)	3/50 (6,0)	0,002	0,646 (0,167; 2,502)	0,527
ECN	8/151 (5,3)	0/50 (0)	0,204	*	*
Éxitus	5/151 (3,3)	0/50 (0)	0,335	*	*

*no puede ser calculada por ser una *n* pequeña

Abreviaturas: VM: ventilación mecánica, VNI: ventilación no invasiva, CVC: catéter venoso central, NP: nutrición parenteral, ROP: retinopatía de la prematuridad, DBP: displasia broncopulmonar, DAP: ductus arterioso persistente, ECN: enterocolitis necrosante. Los valores son media ± DE o números (%).

DISCUSIÓN

El soporte nutricional que recibe el RNMP se ha relacionado no sólo con el crecimiento postnatal, sino también con la modulación de la aparición o del curso de entidades características de la prematuridad como la DBP, NEC o ROP (14,15,89).

Aunque las principales sociedades científicas recomiendan la LD como primera alternativa cuando la leche de propia madre no está disponible o es insuficiente (47,177), sigue sin estar claro si tiene el mismo papel protector frente a las complicaciones típicas de la prematuridad que la leche de propia madre (13). Además algunos estudios sugieren que el crecimiento puede ser más lento comparado con los alimentados con FA y que las tasas de lactancia materna al alta pueden verse afectadas tras la introducción de LD (54,89,178).

El objetivo de esta tesis es comparar los resultados a corto plazo de los RNMP ingresados en nuestra unidad en función del tipo y la cantidad de la NE recibida durante el ingreso. En un primer análisis, comparamos las variables nutricionales, clínicas y el crecimiento antes y después de la introducción de LD en nuestra unidad. Además, estudiamos la influencia de la disponibilidad de LD en las tasas de LM durante el ingreso y al alta. En el segundo análisis, examinamos las mismas variables en función de la exposición a diferentes cantidades de LH, unificando la leche de propia madre y la LD (\geq o $<$ 75% de LH), centrándonos principalmente en cómo pudiera afectar esta exposición al crecimiento y a las posibles complicaciones clínicas durante el ingreso.

1. REPERCUSIÓN EN LA NUTRICIÓN ENTERAL Y LAS TASAS DE LECHE DE PROPIA MADRE TRAS LA INTRODUCCIÓN DE LECHE DE DONANTE

La mayoría de estudios demuestran que los RNP alimentados con LH presentan una mejor tolerancia digestiva que los alimentados con FP, permitiendo así reducir los días en alcanzar la NE total (49,89,90). Esto es de vital importancia ya que permite reducir los días de nutrición parenteral y de catéter central, y por tanto sus complicaciones (91). En nuestro primer análisis se evidencia que desde la introducción de LD en la unidad ha habido una reducción en el porcentaje de niños a dieta los 2 primeros días de vida y en la

edad a la que se inicia la NE, en la línea de otros estudios (16 horas en el trabajo de Castellano Yañez y colaboradores, 12 horas en nuestro trabajo) (90,179). En cambio, no observamos una disminución en los días que recibieron nutrición parenteral ni se acortaron los días a los que se alcanzó la NE total. Estos resultados coinciden con los publicados por Corpeleijn y colaboradores en 2016 (51) y con los de Madore y colaboradores, dónde analizaron una muestra de pacientes de menos de 1kg al nacimiento clasificados en 3 grupos en función de la NE recibida el primer mes de vida (dieta exclusiva con leche de propia madre, > 50% de los aportes enterales con LD o > 50% con FP) encontrando que no había diferencias significativas a pesar de que el grupo que recibió una dieta exclusiva con leche de propia madre alcanzó la NE total 3,5 días antes que el grupo de FP y 2,3 días antes que el grupo de > 50% LD (180). Otros autores como Cristofalo y colaboradores (85), observan una reducción de 5 días en alcanzar la NE total, además de una disminución en los días de nutrición parenteral en aquellos pacientes que recibieron una dieta exclusiva con LH (LD + fortificante derivado de LH) vs una dieta basada en FA (FP + fortificante derivado de leche bovina). En el estudio realizado por Assad y colaboradores (110), dónde compararon 4 grupos de RNP en función de la NE recibida (LH + fortificante derivado de LH, LH + fortificante derivado de leche bovina, LH y FA, alimentación exclusiva con FA) observaron una disminución significativa de los episodios de intolerancia digestiva en el grupo que recibía LH de forma exclusiva comparado con los otros tres grupos, sin mostrar diferencias en los que recibían LH de forma exclusiva pero con fortificante derivado de leche bovina (110).

En cambio, en nuestro segundo análisis, dónde comparamos las cohortes en función de la mayor o menor exposición a LH los primeros 28 días de vida, los pacientes del grupo que recibieron mayor cantidad de LH tardaron más tiempo en alcanzar la NE total y recibieron nutrición parenteral durante más tiempo. Estos resultados estarían relacionados con el hecho de que los pacientes del grupo 1 son más inmaduros como se demuestra al ajustar por EG, donde se pierde esta significación estadística. La menor EG se relaciona con una mayor inmadurez del tracto gastrointestinal y una peor tolerancia digestiva (105).

Por otra parte, existe controversia en la literatura en cuanto al impacto que puede suponer la disponibilidad de LD en las tasas de leche de propia madre (8). En un trabajo publicado por Utrera y colaboradores en el que analizaban el posible impacto de la apertura de un banco de LD en su centro, los autores hipotetizaban si podría verse afectada

la motivación de las madres al saber que de todas formas sus hijos iban a recibir LH y de esa forma disminuyera el esfuerzo que hacen las madres de los RNP para conseguir una producción suficiente de leche (178). Otra de las hipótesis que se planteaba, era que los profesionales sanitarios se relajaran al saber que había disponibilidad de LD y dieran menos apoyo a estas madres (178). En contra de lo que se pensaba, los autores encontraron que las tasas de leche de propia madre no se modificaron (178). Estos mismos resultados han sido publicados por otros autores como Castellano y colaboradores (90). En contra de lo que inicialmente se temía, algunos estudios como la revisión sistemática de Williams (166), objetivan un aumento de la tasas de leche de propia madre. En esta revisión, dónde se incluyeron 10 estudios (en la *tabla 23* se muestran los estudios incluidos y los principales resultados de la revisión) (166), se concluye que existe un impacto positivo en las tasas de LM (al menos parcial) al alta (RR, 1.19; IC95% 1.06-1.35; $p = 0,005$) aunque no en las tasas de LM exclusiva a los 28 días (RR, 1.08; IC95% 0.78-1.49; $p = 0,65$) ni de LM exclusiva al alta (RR, 1.12; IC95%, 0.91-1.40; $p = 0,27$)(166). En cambio, una encuesta italiana publicada en 2013 dónde participaron 83 unidades neonatales y 4277 RN <1500g, mostró que las unidades que disponían de LD tenían una tasa de LM exclusiva al alta mayor que las que no disponían de LD (29,6% vs. 16,0%, respectivamente) (167). Respecto a nuestros resultados, encontramos que la introducción de LD no modificó la tasa de alimentación exclusiva con leche de propia madre al alta, que se situaba en 60,6% en el periodo 1 y 53,9% en el periodo 2 ($p=0,312$). En nuestra unidad el uso de LD disminuyó con el paso de los días y, como vemos en la *tabla 10*, no encontramos ningún paciente de más de 28 semanas de EG que recibiera LD de forma exclusiva a los 7 días y algo menos del 10% en los menores de 28 semanas de EG.

Tabla 23. Resumen de las características de los estudios incluidos en la revisión sistemática: *Use of Donor Human Milk and Maternal Breastfeeding Rates: A Systematic Review (todos los estudios incluidos evalúan el impacto de la introducción de leche de donante en las tasas de leche de propia madre)* (166).

AUTORES	POBLACIÓN	n	OBJETIVO	RESULTADOS
Beasmore y col	PN < 1500g	122	% leche propia madre cuando alcanzan la NE total	65% pre vs 70% post; p=0,51
Bishop y col	PN < 1500g	331	% de tomas que contienen > 50% de leche de propia madre hasta la semana 34 EPM	51% pre vs 54% post; p=0,95
Delfosse y col	EG < 32s o PN < 1500g	650	% leche propia madre recibida entre los días 1 y 14 de vida	63% pre vs 60% post; p no calculada
Esquerra-Zwiers y col	PN < 1500g	265	% de tomas de leche de propia madre entre los días 1 y 14 de vida % de tomas de leche de propia madre entre los días 1 y 28 de vida	65% pre vs 68% post; p<0,01 71% pre vs 61% post; p=0,04
Kok y col	EG < 30s	155	Lactancia materna exclusiva al alta	53% pre vs 64% post; p no calculada
Marinelli y col	PN < 1500g	154	% leche propia madre recibida entre los días 1 y 28 de vida Administración exclusiva de leche de propia madre recibida entre los días 1 y 28 de vida	66% pre vs 70% post; p no calculada 38% pre vs 55% post; p no calculada
Montgomery y col	PN < 2000g	245	Lactancia materna al alta	44% pre vs 53% post; p=0,09
Parker y col	PN < 1500g	154	Lactancia materna al alta	43% pre vs 65% post; p=0,02
Utrera Torres y col	EG < 32s o PN < 1500g	104	Lactancia materna exclusiva al alta Lactancia materna al alta	54% pre vs 56% post; p=0,87 86% pre vs 78% post; p=0,27
Verd y col	PN < 1500g	201	Lactancia materna al alta	67% pre vs 70% post; p=0,74

Abreviaturas: PN: peso al nacimiento, EG: edad gestacional, NE: nutrición enteral, EPM: edad posmenstrual

El número de bancos de LH está creciendo en todo el mundo. Los bancos de leche más allá de cumplir una función de recolección, procesamiento y distribución de la LD, suponen una oportunidad real para promover y apoyar la lactancia materna (166,178). En un estudio reciente dónde evalúan el impacto de suplementar con LD en vez de con FA a los RN ingresados en una maternidad de Florida objetivaron mayores tasas de LM exclusiva a los 6 meses de vida, confirmando la hipótesis de que ofrecer LD en vez de FA supone una motivación para las madres lactantes (156).

En nuestra población, la disponibilidad de LD se relacionó con una tendencia a un mayor porcentaje de pacientes que recibieron sólo LH los días 14 y 28 de vida tras la

introducción de LD (65,2% vs 76,9%, $p=0,066$ y 62,9% vs 75,2%, $p=0,065$ respectivamente), que además fue significativa para los RN < 28 semanas el día 14 (75,0% vs 100,0%, $p=0,004$). A este respecto, hay que destacar que en nuestra unidad ya partíamos de una tasa de LM exclusiva al alta similar a las referidas en algunos de estos estudios (60,6% vs 53,9%, antes y después de la introducción de LD), que puede haber influido en el hecho de que no se aprecie cambio entre los dos periodos.

Debido a las tasas de LM en nuestra unidad, en nuestro segundo análisis (en función del tipo de NE recibida), vemos que sólo recibieron LD menos de un 5% de los RN en ambos grupos, por lo que los resultados en el grupo de LH reflejan mayoritariamente la influencia de leche de propia madre (94% de los RN).

Otro dato a destacar es que el grupo que recibe de forma mayoritaria leche de propia madre ($\geq 75\%$ LH) es el grupo con pacientes de menor EG. Sabemos que obtener una producción óptima de leche es mucho más complicado para las madres de RNP que para las madres de RNT (181). El hecho de no poder amamantar a sus hijos hasta pasadas semanas o, incluso meses, desde el nacimiento, así como la separación del binomio madre-hijo y el estrés y ansiedad que supone el tener un hijo ingresado en UCI durante un largo periodo, son factores que se han descrito como barreras para el correcto establecimiento de la lactancia materna (181,182). En la literatura existe controversia respecto a si a menor EG existe una menor producción de leche y menores tasas de LM exclusiva o, al contrario. En nuestro trabajo, observamos que el grupo que recibe mayor porcentaje de leche de propia madre tiene una menor EG, menor peso al nacimiento y mayor gravedad (mayores puntuaciones en índice CRIB). Estos resultados coinciden con los publicados por Hill y colaboradores e Ikonen y colaboradores (183,184), donde observan una mayor producción de leche a menor EG. Una explicación a este hallazgo, podría ser que a las madres de prematuros extremos se les aconseja que inicien la estimulación y extracción de leche inmediatamente después del parto, dada la importancia del inicio precoz de NE trófica con leche de propia madre en este grupo de pacientes (11). En cambio, a mayor EG y, probablemente, menor gravedad, el personal sanitario insiste menos o más tarde en la estimulación y extracción precoz de leche (184). En cambio, Maastrup y colaboradores en su trabajo publicado en 2014 (185) estudiaron los factores que podían influir en las tasas de lactancia materna exclusiva al alta a través de una encuesta realizada a 1221 madres de RNP entre 24 y 36 semanas de EG, y vieron que

tanto la menor EG como la multiparidad se asociaban a peores resultados. Esto último sí que coincide con los resultados de nuestro trabajo, donde vimos que en el grupo que recibe menor cantidad de LH (<75%) hay mayor número de gemelos.

La disponibilidad de LD en las unidades neonatales debe ir acompañada de una política de promoción de lactancia materna. Tanto los profesionales como las familias debemos de ser conocedores de los beneficios inigualables de la leche de propia madre e instaurar políticas para aumentar la tasa de lactancia materna exclusiva al alta en los RNP y promoverla, siempre que se pueda, hasta los 6 meses de edad corregida de forma exclusiva, como indican las principales sociedades científicas (158). Conseguir una adecuada producción de leche tras un parto prematuro puede ser complicado. Por ello es muy importante la promoción de la lactancia materna durante las primeras 2 semanas de vida ya que se ha visto una correlación entre el volumen de LM a los 14 y 28 días de vida y la tasa de lactancia materna exclusiva al alta (18). Valentine y colaboradores sugieren que existe un periodo crítico en el que es importante la promoción de la lactancia. En su estudio, por cada 1% de aumento de LM que se produce durante los primeros 14 y 28 días de vida la probabilidad de una lactancia materna exclusiva al alta aumenta unas 7 y 17 veces, respectivamente y se ve una fuerte correlación entre lactancia materna exclusiva al alta y producción de LM > 50% de los aportes totales a los 14 días de vida y > 83% a los 28 días de vida (18).

2. INFLUENCIA DEL TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS DURANTE EL INGRESO

2.1. ENTEROCOLITIS NECROSANTE

El empleo de LM en los RNMP se ha relacionado con un descenso en la mortalidad y en la prevalencia de muchas de las complicaciones clínicas de los RNMP (13,49,89), por lo que la LD se postula como la mejor alternativa cuando la leche de propia madre aún no está disponible o la cantidad requerida es mayor a la disponible. Muchos trabajos han valorado si la LD tiene el mismo efecto protector que la LM frente a comorbilidades como la ROP, la leucomalacia periventricular, la DBP y la sepsis tardía, encontrando resultados heterogéneos (13,50,186). Sin embargo, la mayoría de los estudios coinciden en el papel protector de la LD frente a la ECN (13,89,179,187).

La ECN es una enfermedad grave que ocurre en aproximadamente el 5 al 12% de los RNMP (96,188), con una tasa de mortalidad entre el 15 y el 50% (96). Por ello la prevención de la ECN es una de las prioridades en el manejo del RNMP. Con este objetivo, la LD se ha utilizado de forma creciente como alternativa a la FA en las unidades de cuidados intensivos neonatales cuando la leche de propia madre no está disponible, ya que la evidencia científica hasta el momento parece coincidir en el papel de la FA como uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de ECN (13,89,179,187).

Sisk y colaboradores compararon, en un estudio retrospectivo que incluyó a 551 RN < 32 semanas de EG, a 3 grupos en función de la NE recibida ($\geq 50\%$ de cada una de estas tres: LM, LD o FP). En el estudio encontraron diferentes tasas de ECN en función de la NE recibida (LM: 5,3%; LD: 4,3%; FP: 11,4%; $p=0,04$), observando una asociación positiva entre el desarrollo de ECN y haber recibido $\geq 50\%$ de FP (OR ajustada: 2.53; 95% CI: 1.15–5.53; $p=0.02$) (187).

En la revisión sistemática de Miller y colaboradores (13), dónde se incluyeron un total de 6 ensayos clínicos (1472 RN) y 43 estudios observacionales (14950 RN), se analizó la relación entre las principales comorbilidades asociadas a la prematuridad en la población de RN \leq a 28 semanas de EG o con PN < 1500g en función del tipo de dieta recibida (exclusiva con LH vs exclusiva con FP, cualquier cantidad de LH vs exclusiva con FP, mucha o poca cantidad de LH y LH pasteurizada vs no pasteurizada). Los resultados del estudio mostraron que tanto una dieta exclusiva con LH como cualquier cantidad de LH reducían el riesgo de ECN y que, además, a mayor cantidad de LH mayor era el efecto protector, con una reducción absoluta del riesgo del 4% para cualquier grado de ECN y del 2% para la ECN grave. No encontraron diferencias significativas entre la LH pasteurizada y no pasteurizada (13).

En la última revisión sistemática Cochrane sobre este tema, publicada en 2018, los autores concluyeron que la LD en comparación con la FA, tanto de forma exclusiva o como complemento a la leche de propia madre, disminuye el riesgo de ECN en los RNP y RN de bajo peso (89).

Nuestro análisis por periodos (antes y después de la introducción de LD en la unidad) muestra que, desde la introducción de LD en nuestra unidad, existe una tendencia a la disminución en la incidencia de ECN en los RNMP (9,1% vs 3,1%, $p=0,055$, ver *Tabla*

15). Esta disminución sí que es estadísticamente significativa en el grupo de mayores de 28 semanas (5,5% vs 0%, $p=0,044$), probablemente porque eran los que más fórmula recibían previamente (un 16,1% de los RN ≤ 28 semanas de EG recibieron algún volumen de fórmula el día 28 de vida vs el 37,8% de los nacidos con >28 semanas, en el periodo 1 $p=0,002$; un 7,9% vs 33,3%, respectivamente, en el periodo 2, $p=0,003$). Como vemos en la *tabla 10*, aunque el protocolo de la unidad sólo indicaba LD la primera semana de vida en los $>$ de 28 semanas, un 10,5% de estos pacientes aún la recibía a los 28 días de vida, lo cual podría haber jugado un papel en la disminución más significativa de episodios de ECN que vemos en este grupo de pacientes. Un análisis del riesgo de ECN en ambos periodos incluyendo posibles factores de confusión muestra que la probabilidad de sufrir ECN era 4 veces mayor antes de la introducción de LD. La mortalidad fue similar en ambos periodos, resultado que coincide con la literatura (13,89) pero en aquellos pacientes que fallecieron en el periodo 1 respecto a los fallecidos en el periodo 2 objetivamos mayor número de muertes asociadas a la ECN.

En un estudio con un diseño similar al nuestro, Chowning y colaboradores, observaron una reducción en las tasas de ECN (de cualquier grado) del 17 al 4,3% y del 9 al 1,1% de ECN quirúrgica tras la introducción de LD en su unidad (108). Además, constataron una reducción de la ECN inversamente proporcional a la duración de la dieta con LH (108).

Nosotros también observamos una reducción de la ECN quirúrgica, aunque sólo en los $>$ de 28 semanas de EG, tras la introducción de LD en nuestra unidad (5,5 vs 0,0%, $p=0,044$), dado que todos nuestros pacientes de más de 28 semanas que presentaron NEC fueron tributarios de cirugía. Los resultados de un metaanálisis que estudió el efecto protector de la LD en la ECN quirúrgica no encontró diferencias estadísticamente significativas (189).

Nuestros resultados apoyan el hecho de que la LD tiene un efecto protector frente a ECN de cualquier grado y la ECN quirúrgica, no sólo en la población de prematuros extremos sino también en aquellos más maduros, con una EG entre 28 y 32 semanas.

2.2. SEPSIS TARDÍA

Analizar el posible impacto de la introducción de la LD en nuestra unidad sobre la tasa de infección nosocomial o sepsis tardía era también uno de nuestros objetivos.

En nuestro primer análisis, por cohortes temporales, la introducción de LD no disminuyó la tasa de infección tardía en nuestro centro (18,2% vs 21,1; $p=0,585$; *Tabla 15*). Estos resultados podrían ser en parte explicados porque a pesar de que tras la introducción de LD hubo una reducción en el porcentaje de RN a dieta los dos primeros días de vida y la NE se inició antes, no observamos una disminución en los días a los que se alcanzó la NE total y, por tanto, tampoco se vieron reducidos los días de nutrición parenteral ni de vía central. Estos resultados coinciden con los publicados por Corpeleijn y colaboradores en 2016 (51), dónde compararon la suplementación de leche de propia madre con FP o LD los primeros diez días de vida, y tampoco encontraron diferencias entre los grupos en la incidencia de infección nosocomial, aunque en ambos grupos la tasa de leche de propia madre era muy elevada (superior al 80%) y el tiempo de intervención muy corto.

Al analizar este desenlace en función de la cantidad de LH recibida, el grupo que recibe $\geq 75\%$ de su dieta en forma de LH sí que presenta una mayor tasa de sepsis tardía (25,2% vs 6%; $p=0,002$; *Tabla 22*), pero esta diferencia desaparece al ajustar por EG, de forma que el OR para sepsis tardía en función de la cantidad de LH recibida deja de ser significativa (OR 0,646 IC95 0,167-2,502; $p=0,527$; *Tabla 22*). Los diferentes trabajos publicados arrojan diferentes resultados, pero hay que destacar que no todos comparan los mismos tipos de dieta (13,186,190). Si nos fijamos en estudios dónde la LH consistía de forma exclusiva en leche de propia madre, por no haber aún disponibilidad de LD, sí que observamos una reducción significativa de sepsis tardía (191,192). En el estudio de Furman y colaboradores objetivaron una relación dosis-respuesta, los pacientes con menor tasa de sepsis fueron aquellos que consumieron más de 50ml/kg/día de leche de propia madre (191). En el estudio de Hylander y colaboradores también encontraron una reducción llamativa en el número de casos de sepsis/ meningitis entre el grupo que recibía leche humana respecto al que recibía FP (19,5% vs 32,6%, $p=0,04$), en este estudio el grupo de pacientes que recibía LH era leche de propia madre suplementada con FP. Sin embargo, no encontraron una relación dosis-respuesta como en el de Furman (192).

Si analizamos trabajos dónde la dieta se basa de forma exclusiva en LH (leche de propia madre y/o LD con fortificante derivado de LH) también observamos una reducción en la incidencia de sepsis tardía. En el trabajo de Hair y colaboradores encontraron una reducción llamativa de sepsis tardía en el grupo de prematuros extremos que recibió una dieta exclusiva con LH (30,3% vs 19,0%; $p<0,00001$) (193). Del mismo modo, en el

metaanálisis de Miller, se describe una reducción de un 5% de sepsis tardía en el grupo que recibió una dieta exclusiva con LH (13), aunque sin encontrar diferencias en los otros grupos comparados (los que recibieron cualquier cantidad de LH vs una dieta exclusiva con FP, los que recibieron mucha o poca cantidad de LH ni los que recibieron LH pasteurizada vs no pasteurizada) (13).

En cambio, en los trabajos dónde el grupo de LH recibe leche de propia madre y LD y la fortificación se realiza con productos derivados de leche bovina los resultados son más dispares. Verd y colaboradores (186) y Larena y colaboradores (111) estudiaron el impacto de la introducción de LD en su unidad sin observar reducción de sepsis tardía en ninguno de los dos trabajos. En cambio, en el trabajo de Patel y colaboradores, observaron que al aumentar la cantidad de LH recibida los primeros 28 días de vida disminuía el riesgo de sepsis (OR 0,981, 95%CI 0,967-0,995, p=0,008) (109). En el metaanálisis de Silva (190) dónde se incluyeron nueve estudios (tres ensayos clínicos y seis estudios de cohortes) los autores concluyeron que no había evidencia suficiente para afirmar que la LH tenga un papel protector frente a la sepsis, siendo uno de los motivos referidos para esto la diferente metodología utilizada en cada uno de los trabajos incluidos en este metaanálisis. En una publicación reciente del Comité de Nutrición de la Academia Americana de Pediatría (154), se revisó la evidencia científica actual sobre la relación de LH y comorbilidades neonatales siendo dudoso el papel protector de la LH (leche de propia madre junto con LD) frente a la sepsis tardía.

2.3. OTRAS COMORBILIDADES

Respecto a las otras comorbilidades asociadas a la prematuridad, en nuestro primer estudio observamos una reducción de la duración de ventilación mecánica invasiva en el periodo 2 (≤ 28 semanas). Aunque nuestro estudio no tiene la potencia necesaria para demostrarlo, estos resultados coinciden con los encontrados por Verd y colaboradores (186), que en su estudio observaron un descenso en los días de ventilación mecánica y de oxigenoterapia tras la introducción de LD.

En cuanto al resto de patologías estudiadas, no se pudo demostrar la existencia de diferencias significativas entre su incidencia y la implantación del banco de LD en nuestra unidad.

En el análisis por exposición, los pacientes que recibieron $\geq 75\%$ de su soporte nutricional en forma de LH presentaron mayor prevalencia de las morbilidades típicas de la prematuridad como DBP, así como mayor duración de soporte respiratorio, oxigenoterapia, catéter venoso central y antibioterapia, pero estas diferencias desaparecían al ajustar por EG, ya que era el principal factor de riesgo para la aparición de estas entidades y mitigaba el posible efecto protector de la dieta.

Los resultados de los diferentes trabajos publicados al respecto son heterogéneos. Villamor-Martínez y colaboradores (50) en 2018, describen un descenso en la incidencia de DBP en aquellos RNP que reciben suplementación de leche de propia madre con LD frente a los que reciben FA. En cuanto a la ROP, hay estudios que muestran un efecto protector de la LH frente a la alimentación con FA como suplementación de la leche de la propia madre (13,119,122) sin observar diferencias entre la LM y la LD (13). En cambio, Schanler y colaboradores (125) encontraron que la incidencia de ROP grave (estadio 3) fue del 5,6% en los RNP de menos de 30 semanas de gestación que fueron alimentados de forma exclusiva con leche de propia madre en comparación con el 19% de los que se alimentaron con LD y el 14% en los alimentados con FA (como suplemento a la leche de propia madre). En cambio, otros trabajos no han encontrado diferencias en las principales morbilidades neonatales, exceptuando la ECN, al comparar la suplementación con LD o FP cuando la leche de propia madre no es suficiente (89,154).

2.4. INFLUENCIA DEL SEXO EN EL CURSO CLÍNICO

En nuestro trabajo, al analizar por sexos las principales complicaciones asociadas a la prematuridad en los RNMP incluidos en nuestro estudio de cohortes (antes y después de la introducción de LD) no encontramos diferencias en ninguna de las variables de morbilidad estudiadas ni en la mortalidad (*Tabla 17*); aunque, la mayoría de los estudios siguen mostrando peor curso clínico y mayor mortalidad, sobre todo en RN extremadamente prematuros, en los varones. Un trabajo reciente, de una cohorte japonesa que incluyó a 30.023 RNMP mostró unos resultados muy similares (139). La mortalidad fue significativamente mayor en los varones que en las mujeres (7,0% vs 5,9%, $p < 0,01$), especialmente para los RN de 28 semanas de EG (3,2% vs 1,7%, $p < 0,01$). El resultado primario combinado mortalidad y/o cualquier morbilidad importante también fue significativamente mayor para los varones que para las mujeres (36,6% vs 32,7%, $p < 0,01$). Tras la estratificación por EG, la diferencia permaneció estadísticamente

significativa en los grupos de EG 25, 26 y > 30 semanas. La prevalencia de *ductus arterioso* persistente, leucomalacia periventricular y ROP fue similar para ambos sexos, pero hubo diferencias significativas en la prevalencia de enfermedad de membrana hialina (58,2% vs 53,0%, $P < 0,01$), DBP (18.1% vs 14.7%, $P < 0.01$), ECN (1.9% vs 1.3%, $P < 0.01$) y perforación intestinal aislada (2.8% vs 1.6%, $P < 0.01$). Esta diferencia alcanzó significación estadística a partir de las 26 semanas de EG en adelante. Por el contrario, las diferencias en la incidencia de ECN y perforación intestinal aislada tenían más probabilidades de observarse antes de las 26 semanas de EG. Estos resultados indican que los RNMP varones tenían más probabilidades de morir o tener un curso clínico más grave que las mujeres (139).

3. IMPACTO DEL TIPO DE NUTRICIÓN ENTERAL RECIBIDA EN EL CRECIMIENTO POSTNATAL PRECOZ

La evidencia científica actual coincide, de forma mayoritaria, en que una nutrición precoz inadecuada afecta negativamente al desarrollo futuro de los RNP, sobre todo en los menores de 1500g (194–196). Embleton y colaboradores mostraron en su trabajo que el déficit de proteínas y energía la primera semana de vida estaba en relación directa con el retraso de crecimiento postnatal (195). Por ello, el adecuado manejo nutricional precoz de los RNP, así como una correcta monitorización del crecimiento son de vital importancia.

La alimentación exclusiva con LH se ha asociado con una reducción de la mortalidad y una descenso de la morbilidad en los RNMP (197). Sin embargo, los alimentados con FA presentan una mayor ganancia ponderal y un crecimiento más rápido que los alimentados con LH, debido a la mayor cantidad de aportes que contienen las fórmulas para prematuros, sobre todo si las comparamos con la LD.

Si nos fijamos en la diferencia de crecimiento entre RNMP expuestos sólo a LH pero con diferentes cantidades de leche de propia madre y LD, encontramos el estudio de Montjoux-Regis y colaboradores dónde evaluaron la asociación entre diferentes cantidades de leche de propia madre (<20%, del 20% al 80% y $\geq 80\%$ de leche de propia madre en relación con LD) y la velocidad de crecimiento. Los autores obtuvieron que el grupo con una ingesta de leche de propia madre < del 20%, y, por tanto, mayor cantidad

de LD presentó una velocidad de crecimiento menor (198). En el estudio de Colaizy y colaboradores también evaluaron el efecto de diferentes cantidades de LM en comparación con LD (54). Analizaron a los RNMP que habían recibido una cantidad superior al 75% de la alimentación en forma de LH y los dividieron en tres grupos (>75% LD, >75% LM y >75% LM+LD) y vieron que aquellos que pertenecían al grupo que había recibido más del 75% de su alimentación en forma de LD tenían mayores tasas de bajo peso al alta (definido como un peso alta por debajo del percentil 10) que los alimentados con leche de propia madre o una combinación de ambas (56% (LD) vs. 35% (LM), 21% (LM+LD), $p = 0,08$) (54). En nuestro estudio por exposición a pesar de que comparamos un grupo que recibe combinación de leche de propia madre y LD ($\geq 75\%$ LH), con otro que recibe mayor cantidad de FA, la realidad es que los resultados en el grupo de LH reflejan mayoritariamente la influencia de la leche de propia madre, ya que sólo recibieron LD menos de un 5% de los RN.

La última revisión Cochrane que evaluó el efecto de la alimentación con FA en comparación con LD en RNP y de bajo peso al nacer, bien fuera como complemento de la LM o de forma exclusiva, obtuvo como resultado un mayor aumento de peso, crecimiento lineal y crecimiento cefálico en los RNP alimentados con FA en comparación con LD (89). Sin embargo, los datos de la revisión no muestran un efecto a largo plazo sobre el crecimiento o el desarrollo neurológico (89).

En la misma línea, Brownell y colaboradores en el 2018 publicaron un estudio retrospectivo que incluía a 314 RN ≤ 32 semanas de EG y/o PN ≤ 1800 g, en el que se mostraba la relación entre la exposición a diferentes cantidades de LD, LM y FP y el crecimiento a las 36 semanas de EPM o el alta (lo que ocurriera antes). Usando la LM como alimentación de referencia, mediante un análisis multivariante, observaron que con el aumento de ingesta de LD disminuía el z-score de peso y PC y, al contrario, el aumento de FP aumentaba el z-score de peso. Con estos resultados los autores concluyeron que cuanto más LD recibían los RNP mayor riesgo de restricción de crecimiento postnatal tenían (199).

Una revisión publicada en 2020 concluyó que según la mayoría de los estudios incluidos que evaluaron el crecimiento desde el nacimiento hasta el alta o la edad corregida de a término, la alimentación con LH parecía estar asociada con un crecimiento subóptimo,

con una relación inversa entre el crecimiento y la cantidad de LH consumida, y que esto se volvía más pronunciado con el uso de LD como suplemento de la LM (53).

En nuestro análisis por periodos, las medidas de peso, así como sus respectivos z scores no difirieron entre los dos periodos (ver *Tabla 12*), siendo estos resultados diferentes a los que muestran los estudios que hemos comentado previamente (53,54,89,90,198,200). Además, la caída de z score de peso a los 28 días de vida, fue significativamente menor en el segundo periodo, aunque la diferencia es pequeña (IC 95%: $-1,18 \pm 0,41$ vs $-0,96 \pm 0,66$, $p = 0,003$) y no se mantuvo al alta. Sisk y colaboradores (187) también encontraron un crecimiento preservado al alta, pero en su estudio los pacientes en el grupo de LD podían haber recibido hasta un 49% de leche de propia madre. En nuestro caso, la tasa de LM exclusiva en ambos periodos supera el 50% en todos los momentos evaluados y, además, hay una pequeña pero significativa diferencia en el contenido de lípidos en la nutrición parenteral la primera semana de vida ($1,6 \pm 0,7$ vs $1,9 \pm 0,6$; $p=0,014$). Según un modelo de regresión lineal (ver *Tabla 14*), el promedio de lípidos en la nutrición parenteral recibidos la primera semana de vida se asoció de manera independiente con la caída de z-score de peso a los 28 días de vida.

En el trabajo de Verd y colaboradores, con una metodología similar a la nuestra, estudiaron las diferencias en el crecimiento precoz en RNP con $PN < 1000g$ tras la introducción de LD en tres unidades de cuidados intensivos de Cataluña (186). Al comparar los RN con LH predominantemente frente al grupo que recibía FP como suplemento o de forma exclusiva no encontraron diferencias en el z score de peso, longitud y perímetro cefálico desde el nacimiento hasta el alta (186).

Asimismo, Madore y colaboradores realizaron un estudio de cohortes dónde incluyeron a 81 RN con un $PN < 1000g$ y los clasificaron en 3 grupos: LM exclusiva, suplementada con $> 50\%$ de LD o suplementada con $> 50\%$ de FP (180). En el análisis inicial los RNP alimentados con LD de forma mayoritaria tenían un crecimiento más lento que los alimentados con LM o $> 50\%$ de fórmula, pero estas diferencias desaparecieron cuando ajustan los resultados por gravedad y comorbilidades presentes durante el ingreso. Tampoco encontraron diferencias en la longitud o el perímetro cefálico (180).

A diferencia del primer análisis, los resultados de nuestro segundo análisis, dónde lo que comparamos es la mayor o menor exposición a LH (mayoritariamente LM) muestran que

la cohorte de RNMP alimentados de forma mayoritaria con LH y una fortificación estándar durante los primeros 28 días de vida tuvieron un crecimiento postnatal más lento durante su ingreso que los alimentados con mayor cantidad de FP. Los resultados obtenidos muestran un peso y z-score de peso a las 36 semanas de EPM y al alta más bajos en el grupo 1, así como una mayor caída de z-score desde el nacimiento a las 36 semanas de EPM y desde el nacimiento al alta. El porcentaje de niños con fallo de crecimiento postnatal también fue mayor, como reportaron previamente otros estudios (12,53,199).

En nuestro estudio, aparte de la alimentación recibida, hay otros factores que pudieron tener relación con el enlentecimiento del crecimiento de los RNMP alimentados preferentemente con LH, entre ellos el más importante es la menor EG de los pacientes pertenecientes al grupo 1. Numerosas publicaciones estudian los factores que influyen en la restricción de crecimiento postnatal, siendo una constante la mayor prevalencia a menor EG (201–204). En cambio, tras ajustar los resultados por factores de confusión (EG, índice CRIB, días de ventilación mecánica, disponibilidad de LD y días de vida al alta) se mantiene el crecimiento más lento en el grupo de RNMP que recibieron predominantemente LH.

Otros factores que podrían contribuir a esto son que el volumen de leche recibida a los 28 días de vida no alcanzaba los 160 ml/kg/día (límite bajo recomendado para un RN estable) (59) o que la fortificación en el momento del estudio era estandarizada y el fortificante utilizado en aquel momento poseía menor cantidad de proteínas que los que se utilizan en el momento actual. Sin embargo, refleja la práctica clínica habitual de la mayoría de las unidades neonatales en nuestro país en aquel momento. La LH sólo aporta el 60% de los requerimientos de proteínas necesarios en el RNP (74), por tanto si la fortificación es insuficiente podría suponer una deficiente relación proteínas-energía que conllevaría un déficit en la retención de masa magra (205). Es una realidad en la práctica clínica que los RNP reciban menos proteínas que las recomendadas (59,206), lo cual es preocupante, ya que como hemos visto, el crecimiento y la composición corporal pueden verse influenciados por el aporte de macronutrientes de la dieta (205,207). Diferentes trabajos han tratado de dilucidar cuál es el mejor método de fortificación con resultados diversos (208). Polberger y colaboradores (209) compararon un grupo que recibía LH fortificada con proteína de LH (n=16) o con fortificante bovino (n=16) para proporcionar una ingesta

proteica de 3,5 g/kg/día midiendo el contenido de macronutrientes en la leche, sin encontrar diferencias significativas en el crecimiento o los resultados bioquímicos entre los grupos. Arslanoglu y colaboradores demostraron que al ajustar el fortificante basándose en los valores de urea plasmática, los lactantes ganaron más peso que aquellos que recibieron la fortificación estándar (177). McLeod y colaboradores, en 2016, diseñaron un ensayo clínico donde estudiaban el efecto de dos métodos de fortificación: estándar e individualizada (midiendo el contenido de macronutrientes en la leche), siguiendo las recomendaciones de aportes nutricionales de 2010 de la ESPGHAN (208). Sin embargo, no encontraron diferencias en cuanto al crecimiento ni la composición corporal (medida mediante pletismografía al alta) entre los dos grupos, concluyendo que al alta ambos grupos presentaban una ganancia de peso menor y un mayor porcentaje de masa grasa que el de los valores fetales de referencia (208). Los autores de este trabajo concluyeron que la medición del contenido de nutrientes en leche era un método muy laborioso con un coste de tiempo importante que no supuso ninguna ventaja en su estudio. En 2019 el grupo de trabajo de fortificación de la LH de la EMBA publicó un documento con las novedades y recomendaciones en base a la evidencia científica disponible (61), en el que reconocen que la fortificación estándar, que continuaba siendo el régimen más utilizado en las unidades de cuidados intensivos neonatales en ese momento, no proporciona la cantidad de proteínas suficientes para algunos RNMP. La EMBA fomenta el uso de la fortificación individualizada para optimizar la ingesta de nutrientes, bien mediante la estrategia de fortificación ajustada (según cifras de BUN plasmático) o la de fortificación dirigida (midiendo el contenido de macronutrientes en la leche) (61). En nuestro estudio, la fortificación era estándar, y puede ser una de las explicaciones de los resultados de crecimiento y proporciones corporales obtenidos. Aunque actualmente la fortificación individualizada es una práctica creciente en las unidades españolas aún no podemos decir que sea universal. Además, los fortificantes disponibles en el mercado han modificado su composición en los últimos años incrementando la cantidad de proteínas y han aparecido también módulos proteicos específicos para RNP que nos permiten adaptarnos a las recomendaciones internacionales.

Aparte de la nutrición y el crecimiento postnatal temprano, la evidencia más reciente destaca que la composición corporal es el otro factor importante que se relaciona con problemas de salud en el futuro como el síndrome metabólico (75,210,211) y un correcto neurodesarrollo (212). A pesar de su importancia, la evaluación de la composición

corporal en RNP es todo un reto: la mayoría de métodos utilizados para investigación son difíciles de implementar en la práctica clínica (79) y el patrón oro es la pletismografía por desplazamiento de aire. Las opciones alternativas que se suelen utilizar para hacer una aproximación de la composición corporal son la medida de pliegues cutáneos o los índices antropométricos (la relación peso/talla, el IMC o el índice ponderal) (79,80).

Varios estudios han demostrado que la composición corporal de los RNP cuando alcanzan la edad de término es diferente a la de los RN a término (80), mostrando un mayor porcentaje de grasa corporal total y una menor cantidad de masa magra en los RNP (80,81,83,213). Una revisión sistemática reciente que incluye a 2855 RNP evaluó la composición corporal a las 40 semanas de EPM mediante pletismografía por desplazamiento de aire y obtuvieron que los RNP tenían un porcentaje de masa grasa un 5% más elevado que los RNT (16 % frente a 11 %), menor masa magra (2500g frente a 2900g) y mayor masa grasa (490 g frente a 360 g) (214); por tanto, los autores concluyen que el factor que más influye en el menor peso de los RNP en la edad equivalente de a término es un déficit de masa magra (214).

La relación entre el tipo de alimentación recibida y la composición corporal también ha sido estudiada con diferentes resultados en los trabajos publicados. Muchos estudios y metaanálisis han examinado la asociación entre LM y obesidad posterior, encontrando la mayoría un efecto protector de la LM frente a la alimentación con leche de fórmula (84,215,216). En cambio, en el estudio de Li y colaboradores (217), los autores midieron mediante resonancia magnética a las 40 semanas de EPM la composición corporal de 133 RNP < 31 semanas de EG, comparando un grupo que recibió el 100% de la NE en forma de LM con otro que recibió predominantemente FA ($\leq 50\%$ de LM), los resultados del estudio mostraron que los RNP alimentados preferentemente con FA tenían mayor peso y masa magra que los alimentados con LM, pero sin diferencias en el porcentaje de masa grasa (218). Wiechers y colaboradores (213), publicaron un estudio prospectivo dónde evaluaron mediante pletismografía por desplazamiento de aire la composición corporal de 105 RNMP que recibieron una pauta de alcance rápido de NE completa, objetivaron una menor masa magra a las 40 semanas de EPM en los RNP comparados con los RNT, aunque independientemente de la NE recibida durante el ingreso (213). En una revisión sistemática publicada en 2020 por Cerasani y colaboradores, todos los trabajos de esta revisión excepto uno, reportaron que la alimentación con LH en RNP, aunque mostró un

crecimiento postnatal más lento que la alimentación con fórmula, se asoció con una mejor recuperación de la composición corporal gracias a un mayor depósito de masa magra (53). Además, la recuperación del crecimiento tras el alta hospitalaria no parece estar asociada con un mayor depósito de masa grasa cuando los RNP, ya sean adecuados o pequeños para la EG, se alimentan exclusivamente con LM (219).

En nuestro estudio, hicimos una aproximación de la composición corporal utilizando el índice peso/talla y observamos que los RNP alimentados con $\geq 75\%$ de LH (Grupo 1) tenían una relación peso/talla al nacimiento y el alta menor que los alimentados con $< 75\%$ de LH (Grupo 2). Villar y colaboradores en un trabajo publicado en 2017 concluyeron que la relación peso/talla reflejaba mejor la cantidad de masa grasa y masa magra que el IMC y el índice ponderal (81). Sin embargo, pasadas las primeras semanas de vida, y dado que el depósito de masa grasa parece empezar con el nacimiento, los cambios en la relación peso/talla y el IMC seguramente reflejan un aumento de la adiposidad, al menos en RNT (82). Así que nuestros resultados podrían reflejar una menor cantidad de masa grasa en el grupo con mayor ingesta de LH o deberse en parte a que ya su relación peso/talla era más baja al nacimiento.

Otra diferencia entre grupos que encontramos en nuestro estudio respecto al patrón de crecimiento, fue un crecimiento proporcional diferente entre la cabeza y el cuerpo. El z-score del perímetro cefálico desde el nacimiento hasta el alta disminuyó en ambos grupos, sin diferencias entre ellos. Sin embargo, la diferencia entre el cambio del z-score de perímetro cefálico desde el nacimiento hasta el alta respecto al cambio en el z-score de peso tendió a ser menor en el grupo 1, lo que sugiere que, a pesar de una evolución antropométrica más lenta de forma global, el crecimiento de la cabeza podría priorizarse de alguna manera en los niños que reciben predominantemente LH. Los diferentes patrones de crecimiento corporal rara vez se reflejan en la literatura, lo que dificulta su interpretación, pero esto podría contribuir a la explicación de por qué, a pesar de un aumento de peso más lento, los resultados del desarrollo neurológico son mejores en los RNP alimentados con leche de propia madre (220,221). Varios estudios incluidos en una reciente revisión sistemática (221), observan un mejor desarrollo de la sustancia blanca en los RN alimentados con LH respecto a los alimentados con FA. Por ejemplo, Pogribna y colaboradores (222) publicaron que una mayor duración de la ingesta de LH se asociaba con una mayor anisotropía fraccional (medida de la integridad de la sustancia blanca) en

el cuerpo calloso (3,7 semanas más de anisotropía fraccional por cada 10 días adicionales de LH). Del mismo modo, Blesa y colaboradores (223) observaron que recibir un porcentaje de LH $\geq 75\%$ o por un tiempo $\geq 90\%$ de los días, en comparación con $< 75\%$ o $< 90\%$, se asociaba con una mayor sustancia blanca y una mielinización más temprana. De forma similar, Deoni y colaboradores (131) midieron la sustancia blanca en las imágenes de la resonancia magnética a una edad entre 10 meses y 4 años de niños nacidos a término y observaron que la LM se asociaba con un aumento de la capacidad cognitiva y de la sustancia blanca en comparación con la alimentación con FA o lactancia mixta.

Un análisis más detallado de nuestras cohortes comparando las diferentes variables de crecimiento entre sexos encontró algunas diferencias (*Tabla 13*), las mujeres del periodo 2 perdieron menos peso que las del periodo 1 y esta diferencia no es significativa en los varones. En cambio, la caída de z-score de peso a los 28 días de vida fue significativamente menor en el periodo 2 sólo en los pacientes de sexo masculino. En una revisión reciente de Alur y Ramarao (141) se muestran las diferencias entre sexos tanto en el crecimiento precoz como en la composición corporal de los RNP, teniendo las mujeres mayor masa grasa que los varones. En un estudio de seguimiento de RN < 32 semanas observaron que la ganancia ponderal precoz se relacionaba de forma directa con el IMC, la masa grasa y la masa magra a los 19 años (224), esto podría explicar por qué el crecimiento precoz entre sexos es diferente. Los factores que contribuyen al diferente patrón de crecimiento y composición corporal entre sexos aún son desconocidos en el momento actual, se cree que podría deberse a las diferencias en el metabolismo basal junto con una interacción hormonal diferente, pero todo ello aún no está bien definido (141,225).

En vista del retraso del crecimiento posnatal y la composición corporal aberrante que presentan muchos de los RNP en el momento del alta (226), es necesaria una mejor comprensión de los mecanismos implicados para mejorar los resultados de esta población a largo plazo.

4. LIMITACIONES

Una de las limitaciones del estudio es el tamaño muestral. Aunque responde al cálculo realizado en la metodología para responder al objetivo principal, un mayor número de

pacientes nos permitiría tener potencia para estudiar asociaciones con otras variables clínicas o de crecimiento.

Por otra parte, el diseño retrospectivo no permite establecer causalidad. En el primer estudio, decidimos analizar los periodo previo y posterior a la introducción de LD en lugar de las ingestas actuales porque consideramos que reflejaría mejor el impacto de la disponibilidad de LD en la unidad. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que tenemos una tasa moderadamente alta de LM, por lo que más de la mitad de la muestra en ambos periodos recibió exclusivamente LM durante el ingreso, lo que podría dificultar el detectar cualquier otra diferencia entre LD y fórmula.

En el segundo estudio, quisimos analizar las diferencias nutricionales, clínicas y, sobre todo el crecimiento, en función de la ingesta mayoritaria de LH o FA. Consideramos los aportes nutricionales recibidos los primeros 28 días de vida porque se ha visto que se correlacionan bien con la NE al alta (18), y disponíamos de información detallada de la ingesta diaria durante este período. Una de las limitaciones de este estudio es la diferencia de las características basales entre los grupos, sobre todo en relación a la EG. Con la evidencia actual resulta poco ético diseñar un ensayo clínico donde se exponga a un grupo de forma mayoritaria a FA, por lo que solo es posible un diseño retrospectivo, en el que las diferencias basales entre grupos que se han tratado de ajustar con análisis de regresión. Además, debido a la elevada tasa de LM en nuestra unidad, el porcentaje de LD recibida en cada uno de los grupos fue menor de un 5%, por lo que los resultados en el grupo de LH reflejan mayoritariamente la influencia de la leche de su propia madre. Finalmente, no disponemos de seguimiento a largo plazo para comprobar el impacto de esas diferencias en el futuro.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y para contestar a los objetivos planteados en el presente estudio podemos concluir que:

1. Desde la introducción de leche humana de donante en nuestra unidad objetivamos una disminución de enterocolitis necrosante, especialmente en los recién nacidos prematuros con una edad gestacional entre 28 y 32 semanas. Sin embargo, no encontramos diferencias en la incidencia de otras complicaciones asociadas a la prematuridad como sepsis tardía, displasia broncopulmonar o retinopatía de la prematuridad.
2. La introducción de leche humana de donante en nuestra unidad no modificó las tasas de leche de propia madre recibida al inicio del ingreso, a los 28 días de vida o al alta, manteniéndose estable la cifra de leche materna exclusiva al alta.
3. La disponibilidad de leche humana de donante en nuestra unidad supuso un inicio más precoz de la nutrición enteral, quedando menos recién nacidos a dieta los dos primeros días de vida, aunque ello no conllevó una reducción en los días de nutrición parenteral ni vía central.
4. Al comparar el crecimiento postnatal precoz de los recién nacidos muy prematuros del periodo pre y post introducción de leche humana de donante no objetivamos diferencias. En cambio, sí que encontramos diferencias al comparar los grupos de pacientes en función de la mayor o menor exposición a leche humana los primeros 28 días de vida, observando un crecimiento más lento en los que recibieron de forma mayoritaria leche humana, aunque en parte estas diferencias podrían ser debidas a la menor edad gestacional y las diferentes características clínicas de los pacientes de este grupo.
5. El patrón de crecimiento de los recién nacidos muy prematuros en función de la cuantía de leche humana que recibieron los primeros 28 días de vida también fue diferente. Los pacientes que recibieron mayor ingesta de leche humana tuvieron

una relación peso/talla inferior a los alimentados con mayor proporción de fórmula artificial, lo cual podría traducir menor depósito de masa grasa. La proporción de crecimiento de la cabeza respecto al cuerpo fue mayor en el grupo de recién nacidos que ingirieron mayoritariamente leche humana, pudiendo indicar que el crecimiento cefálico está más priorizado en este grupo (a pesar de ser menor que en el grupo que recibe menos leche humana).

REFERENCIAS

1. Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet* [Internet]. 2016;388(10063):3027–35. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31593-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31593-8)
2. Bhatia J. Human milk and the premature infant. *Ann Nutr Metab*. 2013;62(SUPPL. 3):8–14.
3. Howson C p, Kinney M, Mc Dougall L. Born too soon: preterm birth matters. Vol. 10, *Reprod Health*. 2013. p. S1.
4. Behrman RE, Butler AS. Preterm birth: Causes, Consequences, and prevention. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. 2007. 1–772 p.
5. Owen LS, Manley BJ, Davis PG, Doyle LW. The evolution of modern respiratory care for preterm infants. *Lancet*. 2017;389(10079):1649–59.
6. Lund AM, Löfqvist C, Pivodic A, Lundgren P, Hård AL, Hellström A, et al. Unpasteurised maternal breast milk is positively associated with growth outcomes in extremely preterm infants. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2020;109(6):1138–47.
7. Franz AR, Pohlandt F, Bode H, Mihatsch WA, Sander S, Kron M, et al. Intrauterine, early neonatal, and postdischarge growth and neurodevelopmental outcome at 5.4 years in extremely preterm infants after intensive neonatal nutritional support. *Pediatrics*. 2009;123(1).
8. Ramel SE, Gray HL, Davern BA, Demerath EW. Body composition at birth in preterm infants between 30 and 36 weeks gestation. *Pediatr Obes*. 2015;10(1):45–51.
9. Izquierdo M, Martínez-Monseny AF, Pociello N, Gonzalez P, Del Rio R, Iriondo M, et al. Changes in Parenteral Nutrition during the First Week of Life Influence Early but Not Late Postnatal Growth in Very Low-Birth-Weight Infants. *Nutr Clin Pract*. 2016;31(5):666–72.
10. Härtel C, Haase B, Browning-Carmo K, Gebauer C, Kattner E, Kribs A, et al. Does the enteral feeding advancement affect short-term outcomes in very low birth weight infants? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;48(4):464–70.
11. Dutta S, Singh B, Chessell L, Wilson J, Janes M, McDonald K, et al. Guidelines for feeding very low birthweight infants. *Nutrients*. 2015;7(1):423–42.

12. Quigley, M.; Embleton, N.D.; McGuire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;6(6).
13. Miller J, Tonkin E, Damarell RA, McPhee AJ, Sukanuma M, Sukanuma H, et al. A systematic review and meta-analysis of human milk feeding and morbidity in very low birth weight infants. *Nutrients.* 2018;10(6).
14. Morales Y, Schanler RJ. Human Milk and Clinical Outcomes in VLBW Infants: How Compelling Is the Evidence of Benefit? *Semin Perinatol.* 2007;31(2):83–8.
15. Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C. Feeding strategies for premature infants: Beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula. *Pediatrics.* 1999;103(6 I):1150–7.
16. Mosca F, Gianni ML. Human milk: composition and health benefits. *Pediatr Med Chir.* 2017;39(2):155.
17. García J., Cruz O, Mintegi S, Moreno JM. M. Cruz. *Manual de Pediatría.* 4^a. Majalahonda (Madrid): Ergon; 2020.
18. Valentine G, Ford S, Hagan J, Yang H, Chen J, Hurst N, et al. Percent mother ' s own milk feedings for preterm neonates predicts discharge feeding outcomes. 2021;(August):1–8.
19. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev* [Internet]. 2015;91(11):629–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
20. Austin S, De Castro CA, Sprenger N, Binia A, Affolter M, Garcia-Rodenas CL, et al. Human milk oligosaccharides in the milk of mothers delivering term versus preterm infants. *Nutrients.* 2019;11(6).
21. Urashima T, Hirabayashi J, Sato S, Kobata A. Human milk oligosaccharides as essential tools for basic and application studies on galectins. *Trends Glycosci Glycotechnol.* 2018;30(172):SJ11–24.
22. Oliveros E, Vázquez E, Barranco A, Ramírez M, Gruart A, Delgado-García JM, et al. Sialic acid and sialylated oligosaccharide supplementation during lactation improves learning and memory in rats. *Nutrients.* 2018;10(10).
23. Underwood M. Human milk for preterm infant. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(1):189–207.
24. Gila-Diaz A, Arribas SM, Algara A, Martín-Cabrejas MA, Pablo ÁLL de, Pipaón MS de, et al. A review of bioactive factors in human breastmilk: A focus on

- prematurity. *Nutrients*. 2019;11(6):1–23.
25. Ballard O, Morrow A. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(1):49–74.
 26. Yuksel S, Yigit AA, Cinar M, Atmaca N, Onaran Y. Oxidant and antioxidant status of human breast milk during lactation period. *Dairy Sci Technol*. 2015;95(3):295–302.
 27. Hirai C, Ichiba H, Saito M, Shintaku H, Yamano T, Kusuda S. Trophic effect of multiple growth factors in amniotic fluid or human milk on cultured human fetal small intestinal cells. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;34(5):524–8.
 28. Miettinen P, Berger J, Meneses J, Phung Y, Pedersen R, Werb Z, et al. Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor. *Nature*. 1995;376(6538):337–41.
 29. Shelby RD, Cromeens B, Rager TM, Besner GE. Influence of Growth Factors on the Development of Necrotizing Enterocolitis. *Clin Perinatol*. 2019;46(1):51–64.
 30. Munblit D, Abrol P, Sheth S, Chow LY, Khaleva E, Asmanov A, et al. Levels of growth factors and iga in the colostrum of women from Burundi and Italy. *Nutrients*. 2018;10(9):1–13.
 31. Saso A, Blyuss O, Munblit D, Faal A, Moore SE, Le Doare K. Breast milk cytokines and early growth in Gambian infants. *Front Pediatr*. 2019;6(JAN).
 32. Savino F, Liguori SA, Lupica MM. Adipokines in breast milk and preterm infants. *Early Hum Dev* [Internet]. 2010;86(SUPPL. 1):77–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2010.01.011>
 33. Khodayar-Pardo P, Mira-Pascual L, Collado MC, Martínez-Costa C. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J Perinatol*. 2014;34(8):599–605.
 34. Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, Pérez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *J Nutr*. 2011;141(6):1181–7.
 35. Molès JP, Tuailon E, Kankasa C, Bedin AS, Nagot N, Marchant A, et al. Breastmilk cell trafficking induces microchimerism-mediated immune system maturation in the infant. *Pediatr Allergy Immunol*. 2018;29(2):133–43.
 36. Vass RA, Kemeny A, Dergez T, Ertl T, Reglodi D, Jungling A, et al. Distribution of bioactive factors in human milk samples. *Int Breastfeed J*. 2019;14(1):1–10.
 37. Perez PF, Doré J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P, et al. Bacterial

- imprinting of the neonatal immune system: Lessons from maternal cells? *Pediatrics*. 2007;119(3).
38. Barthow C, Wickens K, Stanley T, Mitchell EA, Maude R, Abels P, et al. The Probiotics in Pregnancy Study (PiP Study): Rationale and design of a double-blind randomised controlled trial to improve maternal health during pregnancy and prevent infant eczema and allergy. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. 2016;16(1):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12884-016-0923-y>
 39. van Goudoever JB, Vlaardingerbroek H, Van den Akker C. Amino acids and proteins. *World Rev Nutr Die*. 2014;110:49–63.
 40. Aceti A, Beghetti I, Martini S, Faldella G, Corvaglia L. Oxidative stress and necrotizing enterocolitis: Pathogenetic mechanisms, opportunities for intervention, and role of human milk. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018.
 41. Wilinska M, Borszewska-Kornacka MK, Niemiec T, Jakiel G. Oxidative stress and total antioxidant status in term newborns and their mothers. *Ann Agric Environ Med*. 2015;22(4):736–40.
 42. Friel JK, Martin SM, Langdon M, Herzberg GR, Buettner GR. Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formula. *Pediatr Res*. 2002;51(5):612–8.
 43. Niemarkt HJ, De Meij TG, Van Ganzewinkel CJ, De Boer NKH, Andriessen P, Hütten MC, et al. Necrotizing Enterocolitis, Gut Microbiota, and Brain Development: Role of the Brain-Gut Axis. *Neonatology*. 2019;115(4):423–31.
 44. Warner PBB, Louis S, Deych E, Louis S, Zhou Y, Louis S, et al. Birthweight Infants : a Prospective Case-Control Study. *Lancet*. 2017;387(10031):1928–36.
 45. Chapman D, Pérez-Escamilla R. Identification of risk factors for delayed onset of lactation. *J Am Diet Assoc*. 1999;99(4):455–6.
 46. Asztalos E V. Supporting mothers of very preterm infants and breast milk production: A review of the role of galactogogues. *Nutrients*. 2018;10(5).
 47. Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. Donor human milk for preterm infants: Current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;57(4):535–42.
 48. Quigley M, Mcguire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(4):CD002971.
 49. Bertino E, Giuliani F, Baricco M, Nicola P Di, Peila C, Vassia C, et al. Early Human Development Benefits of donor milk in the feeding of preterm infants.

- Early Hum Dev [Internet]. 2013;89:S3–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2013.07.008>
50. Villamor-Martínez E, Pierro M, Cavallaro G, Mosca F, Kramer BW, Villamor E. Donor human milk protects against bronchopulmonary dysplasia: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2018;10(2):9–15.
 51. Corpeleijn WE, De Waard M, Christmann V, Van Goudoever JB, Jansen-Van Der Weide MC, Kooi EMW, et al. Effect of donor milk on severe infections and mortality in very low-birth-weight infants: The early nutrition study randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*. 2016;170(7):654–61.
 52. Cañizo Vázquez D, Salas García S, Izquierdo Renau MI, Iglesias-Platas I. Availability of donor milk for very preterm infants decreased the risk of necrotizing enterocolitis without adversely impacting growth or rates of breastfeeding. *Nutrients*. 2019;11(8).
 53. Cerasani J, Ceroni F, De Cosmi V, Mazzocchi A, Morniroli D, Roggero P, et al. Human milk feeding and preterm infants' growth and body composition: A literature review. *Nutrients*. 2020;12(4):1–12.
 54. Colaizy TT, Carlson S, Saftlas AF, Morriss FH. Growth in VLBW infants fed predominantly fortified maternal and donor human milk diets: a retrospective cohort study. *BMC Pediatr*. 2012;12.
 55. Demers-Mathieu V, Huston RK, Markell AM, McCulley EA, Martin RL, Spooner M, et al. Differences in maternal immunoglobulins within mother's own breast milk and donor breast milk and across digestion in preterm infants. *Nutrients*. 2019;11(4):1–14.
 56. Silvestre D, Miranda M, Muriach M, Almansa I, Jareno E, Romero FJ. Antioxidant capacity of human milk: Effect of thermal conditions for the pasteurization. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2008;97(8):1070–4.
 57. Goelz R, Hihn E, Hamprecht K, Dietz K, Jahn G, Poets C, et al. Effects of different CMV-heat-inactivation-methods on growth factors in human breast milk. *Pediatr Res*. 2009;65(4):458–61.
 58. Ziegler EE. Meeting the nutritional needs of the low-birth-weight infant. *Ann Nutr Metab*. 2011;58(SUPPL. 1):8–18.
 59. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: Commentary from the european society of paediatric gastroenterology, hepatology and nutrition committee on nutrition. *J*

- Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010;50(1):85–91.
60. Moro GE, Arslanoglu S, Bertino E, Corvaglia L, Montirosso R, Picaud JC, et al. XII. Human milk in feeding premature infants: Consensus statement. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;61(3):S16–9.
 61. Arslanoglu S, Boquien CY, King C, Lamireau D, Tonetto P, Barnett D, et al. Fortification of human milk for preterm infants: Update and recommendations of the European milk bank association (EMBA) working group on human milk fortification. *Front Pediatr.* 2019;7(MAR):1–14.
 62. Ananthan A, Balasubramanian H, Rao S, Patole S. Human Milk-Derived Fortifiers Compared with Bovine Milk-Derived Fortifiers in Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Nutr.* 2020;11(5):1325–33.
 63. Brown JV, Embleton ND, Harding JE, McGuire W. Multi-nutrient fortification of human milk for preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;2016(5).
 64. Torres Martínez E, García Robles AA, Gormaz Moreno M, Gimeno Navarro A, Izquierdo Macián I, Poveda Andrés JL, et al. Efecto de la adición de fortificantes y de módulo de proteínas en la osmolalidad de la leche materna donada. *An Pediatría.* 2020;93(5):297–304.
 65. AAP Committee on nutrition. Nutritional Needs of Low-Birth-Weight Infants. *Pediatrics.* 1977;60(4):519–32.
 66. Cooke RJ, Ainsworth SB, Fenton AC. Postnatal growth retardation: A universal problem in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004;89(5):428–30.
 67. Khasawneh W, Khassawneh M, Mazin M, Al-Theiabat M, Alquraan T. Clinical and nutritional determinants of extrauterine growth restriction among very low birth weight infants. *Int J Gen Med.* 2020;13:1193–200.
 68. Liu M-Y, Chen Y-Y, Hu S-H, Chen Y-K, Chang S-J. The Influence of Aggressive Parenteral Nutrition to Preterm and Very Low Birth Weight Infants. *Glob Pediatr Heal.* 2015;2(1):2333794X1456719.
 69. Dorling J, Abbott J, Berrington J, Bosiak B, Bowler U, Boyle E, et al. Controlled Trial of Two Incremental Milk-Feeding Rates in Preterm Infants. *N Engl J Med.* 2019;381(15):1434–43.
 70. Oddie SJ, Young L, McGuire W. Slow advancement of enteral feed volumes to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;2021(8):14651858.

71. Izquierdo Renau M, Aldecoa-Bilbao V, Balcells Esponera C, Del Rey Hurtado De Mendoza B, Iriando Sanz M, Iglesias-Platas I. Applying methods for postnatal growth assessment in the clinical setting: Evaluation in a longitudinal cohort of very preterm infants. *Nutrients*. 2019;11(11):1–13.
72. Cormack BE, Embleton ND, Van Goudoever JB, Hay WW, Bloomfield FH. Comparing apples with apples: It is time for standardized reporting of neonatal nutrition and growth studies. *Pediatr Res*. 2016;79(6):810–20.
73. Lapillonne A, Griffin IJ. Feeding preterm infants today for later metabolic and cardiovascular outcomes. *J Pediatr* [Internet]. 2013;162(3 SUPPL.):S7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.11.048>
74. Strydom K, Van Niekerk E, Dhansay MA. Factors affecting body composition in preterm infants: Assessment techniques and nutritional interventions. *Pediatr Neonatol* [Internet]. 2019;60(2):121–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2017.10.007>
75. Msall, M.E.; Sobotka, S.A.; Dmowska, A.; Hogan, D.; Sullivan, M. Life Course Health Development Outcomes After Prematurity: Developing a Community, Clinical, and Translational Research Agenda to Optimize Health, Behavior, and Functioning. In *Handbook of Life Course Health Development* [Internet]; Halfon, N., Forrest, C.B., Lerner, R.M., Faustman, E.M., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2018.
76. Parlapani E, Agakidis C, Karagiozoglou–Lampoudi T. Anthropometry and Body Composition of Preterm Neonates in the Light of Metabolic Programming. *J Am Coll Nutr* [Internet]. 2018;37(4):350–9. Available from: <https://doi.org/10.1080/07315724.2017.1400479>
77. Gianni ML, Roggero P, Piemontese P, Morlacchi L, Bracco B, Taroni F, et al. Boys who are born preterm show a relative lack of fat-free mass at 5 years of age compared to their peers. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2015;104(3):e119–23.
78. Yajnik CS, Fall CHD, Coyaji KJ, Hirve SS, Rao S, Barker DJP, et al. Neonatal anthropometry: The thin-fat Indian baby. The Pune maternal nutrition study. *Int J Obes*. 2003;27(2):173–80.
79. Andrews ET, Beattie RM, Johnson MJ. Measuring body composition in the preterm infant: Evidence base and practicalities. *Clin Nutr* [Internet]. 2019;38(6):2521–30. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.12.033>
80. Johnson MJ, Wootton SA, Leaf AA, Jackson AA. Preterm birth and body

- composition at term equivalent age: A systematic review and meta-analysis. *Pediatrics*. 2012;130(3):2011.
81. Villar J, Puglia FA, Fenton TR, Cheikh Ismail L, Staines-Urias E, Giuliani F, et al. Body composition at birth and its relationship with neonatal anthropometric ratios: The newborn body composition study of the INTERGROWTH-21 st project. *Pediatr Res*. 2017;82(2):305–16.
 82. Perng W, Ringham BM, Glueck DH, Sauder KA, Starling AP, Belfort MB, et al. An observational cohort study of weight- and length-derived anthropometric indicators with body composition at birth and 5 mo: The Healthy Start study. *Am J Clin Nutr*. 2017;106(2):559–67.
 83. Simsek M, Ergenekon E, Beken S, Kulali F, Unal S, Kazanci E, et al. Skinfold thickness of preterm newborns when they become late preterm infants. *Nutr Clin Pract*. 2015;30(2):266–73.
 84. Lind MV, Larnkjær A, Mølgaard C, Michaelsen KF. Breastfeeding, breast milk composition, and growth outcomes. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2018;89:63–77.
 85. Cristofalo EA, Schanler RJ, Blanco CL, Sullivan S, Trawoeger R, Kiechl-kohlendorfer U, et al. Randomized Trial of Exclusive Human Milk versus Preterm Formula Diets in Extremely Premature Infants. *J Pediatr* [Internet]. 2013;163(6):1592-1595.e1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.07.011>
 86. Lewandowski AJ, Levy PT, Bates ML, McNamara PJ, Nuyt AM, Goss KN. Impact of the vulnerable preterm heart and circulation on adult cardiovascular disease risk. *Hypertension*. 2020;1028–37.
 87. El-Khuffash A, Lewandowski AJ, Jain A, Hamvas A, Singh GK, Levy PT. Cardiac Performance in the First Year of Age Among Preterm Infants Fed Maternal Breast Milk. *JAMA Netw Open*. 2021;4(8):e2121206.
 88. Moore TA, Wilson ME. Feeding intolerance: A concept analysis. *Adv Neonatal Care*. 2011;11(3):149–54.
 89. Quigley M, Embleton ND, Mcguire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants (review). *Cochrane database Syst Rev*. 2018;(6).
 90. Castellano Yáñez C, Castillo Barrio B, Muñoz Labián M del C, Ortiz Movilla R, García Lara NR, Royuela Vicente A, et al. Providing very preterm infants with

- donor human milk led to faster breastfeeding rates but worse biometric gains. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2019;108(4):766–7.
91. Klingenberg C, Embleton ND, Jacobs SE, O’Connell LAF, Kuschel CA. Enteral feeding practices in very preterm infants: An international survey. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2012;97(1):1–3.
 92. Flidel-Rimon O, Friedman S, Lev E, Juster-Reicher A, Amitay M, Shinwell ES. Early enteral feeding and nosocomial sepsis in very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004;89(4):289–92.
 93. Meinzen-Derr J, Poindexter B, Wrage L, Morrow A, Stoll BJ, Donovan E, et al. Role of human milk in extremely low birth weight infants’ risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol* [Internet]. 2009;29(1):57–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
 94. Rønnestad A, Abrahamsen TG, Medbø S, Reigstad H, Lossius K, Kaaresen PI, et al. Late-onset septicemia in a Norwegian national cohort of extremely premature infants receiving very early full human milk feeding. *Pediatrics*. 2005;115(3):269–76.
 95. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *Lancet*. 2006;368(9543):1271–83.
 96. Shah TA, Meinzen-Derr J, Gratton T, Steichen J, Donovan EF, Yolton K, et al. Hospital and neurodevelopmental outcomes of extremely low-birth-weight infants with necrotizing enterocolitis and spontaneous intestinal perforation. *J Perinatol*. 2012;32(7):552–8.
 97. Luig M, Lui K. Epidemiology of necrotizing enterocolitis - Part II: Risks and susceptibility of premature infants during the surfactant era: A regional study. *J Paediatr Child Health*. 2005;41(4):174–9.
 98. Ganapathy V, Hay JW, Kim JH. Costs of necrotizing enterocolitis and cost-effectiveness of exclusively human milk-based products in feeding extremely premature infants. *Breastfeed Med*. 2012;7(1):29–37.
 99. Berman L, Moss RL. Necrotizing enterocolitis: An update. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2011;16(3):145–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2011.02.002>
 100. Sharma R, Hudak ML. A Clinical Perspective of Necrotizing Enterocolitis Past, Present, and Future. *Clin Perinatol*. 2013;40(1):27–51.
 101. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann*

- Surg. 1978;187(1):1–7.
102. Walsh MC, Kliegman RM, D M. Necrotizing Enterocolitis: Treatment Based on Staging Criteria. *Pediatr Clin North Am.* 1986;33(1):179–201.
 103. Gasque-Góngora JJ. Revisión y actualización de enterocolitis necrosante. *Rev Mex Pediatr.* 2015;82(5):175–85.
 104. Caplan MS. Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants is Related to Enteral Feeding, But the Mechanisms Remain Uncertain and Have Changed Over Time. *Curr Pediatr Rep.* 2014;2(4):241–7.
 105. Neu J. Gastrointestinal development and meeting the nutritional needs of premature infants. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(2).
 106. Nolan LS, Parks OB, Good M. A review of the immunomodulating components of maternal breast milk and protection against necrotizing enterocolitis. *Nutrients.* 2020;12(1).
 107. Lucas PJ, Lucas A, Gore SM, Cole TJ, Bamford MF, Dossetor JFB, et al. Multicentre trial on feeding low birthweight infants: Effects of diet on early growth. *Arch Dis Child.* 1984;59(8):722–30.
 108. Chowning R, Radmacher P, Lewis S, Serke L, Pettit N, Adamkin DH. A retrospective analysis of the effect of human milk on prevention of necrotizing enterocolitis and postnatal growth. *J Perinatol.* 2016;36(3):221–4.
 109. Patel AL, Johnson T, Engstrom J, Fogg L, Jegier B, Bigger H, et al. Impact of Early Human Milk on Sepsis and Health Care Costs in Very Low Birth Infants. *J Perinatol.* 2013;33(7):514–9.
 110. Assad M, Elliott MJ, Abraham JH. Decreased cost and improved feeding tolerance in VLBW infants fed an exclusive human milk diet. *J Perinatol* [Internet]. 2015;(October):1–5. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/jp.2015.168>
 111. Larena I, Vara M, Royo D, López R, Cortés J, Samper P. Estudio de los efectos de la implantación de un banco de leche donada en los recién nacidos pretérmino en Aragón. *Enfermería Clínica* [Internet]. 2015;25(2):57–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enfcli.2014.08.003>
 112. Sánchez Luna M, Moreno Hernando J, Botet Mussons F, Fernández Lorenzo JR, Herranz Carrillo G, Rite Gracia S, et al. Displasia broncopulmonar: definiciones y clasificación. *An Pediatr.* 2013;79(4).
 113. Cheong JLY, Doyle LW. Long-term effects of postnatal corticosteroids to prevent

- or treat bronchopulmonary dysplasia: Balancing the risks and benefits. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2019;24(3):197–201. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2019.03.002>
114. Jobe AH, Bancalari E. NICHD / NHLBI / ORD Workshop Summary. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:1723–9.
 115. Stenson B, Brocklehurst P, Tarnow-Mordi W. Increased 36-Week Survival with High Oxygen Saturation Target in Extremely Preterm Infants. *N Engl J Med*. 2011;364(17):1680–2.
 116. Jensen EA, Dysart K, Gantz MG, McDonald S, Bamat NA, Keszler M, et al. The Diagnosis of Bronchopulmonary Dysplasia in Very Preterm Infants An Evidence-based Approach. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(6):751–9.
 117. McEvoy CT, Jain L, Schmidt B, Abman S, Bancalari E, Aschner JL. Bronchopulmonary dysplasia: NHLBI Workshop on the primary prevention of chronic lung diseases. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11(SUPPL. 3).
 118. Palacios PT. Retinopatía de la prematuridad. ¿qué debe saber el pediatra? *An Pediatr Contin*. 2014;12(1):10–6.
 119. Manzoni P, Stolfi I, Pedicino R, Vagnarelli F, Mosca F, Pagni L, et al. Human milk feeding prevents retinopathy of prematurity (ROP) in preterm VLBW neonates. *Early Hum Dev* [Internet]. 2013;89(SUPPL.1):S64–8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-3782\(13\)70019-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-3782(13)70019-7)
 120. Patz A. The new international classification of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol*. 1984;74(1):160–2.
 121. Smith LEH. Pathogenesis of retinopathy of prematurity. *Growth Horm IGF Res*. 2004;14(SUPPL. A):140–4.
 122. Raghuv eer TS, Zackula R. Strategies to prevent severe retinopathy of prematurity: A 2020 update and meta-analysis. *Neoreviews*. 2020;21(4):e249–63.
 123. Bashinsky A. Retinopathy of Prematurity. *N C Med J*. 2017;78(2):124–8.
 124. Hellström A, Smith LEH, Dammann O. Retinopathy of prematurity. *Lancet*. 2013;382(9902):1445–57.
 125. Schanler RJ, Lau C, Hurst N, Smith E. Randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitutes for mothers ' own milk in feeding of extremely premature infants. *Pediatrics*. 2005;116(2):400–6.
 126. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, et al. National Institutes of Health Bethesda, Maryland Pediatrics. *Pediatrics* [Internet].

- 2010;126(3):443–56. Available from:
<http://www.pediatrics.org/misc/reprints.shtml>
127. Vohr BR, Wright LL, Dusick AM, Mele L, Verter J, Steichen JJ, et al. Neurodevelopmental and functional outcomes of extremely low birth weight infants in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 1993-1994. *Pediatrics*. 2000;105(6):1216–26.
 128. Unger S, Gibbins S, Zupancic J, O'Connor DL. DoMINO: Donor milk for improved neurodevelopmental outcomes. *BMC Pediatr*. 2014;14(1):1–12.
 129. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Wright LL, Langer JC, et al. Beneficial effects of breast milk in the neonatal intensive care unit on the developmental outcome of extremely low birth weight infants at 18 months of age. *Pediatrics*. 2006;118(1).
 130. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Higgins RD, Langer JC, et al. Persistent beneficial effects of breast milk ingested in the neonatal intensive care unit on outcomes of extremely low birth weight infants at 30 months of age. *Pediatrics*. 2007;120(4).
 131. Deoni SCL, Dean DC, Piryatinsky I, O'Muircheartaigh J, Waskiewicz N, Lehman K, et al. Breastfeeding and early white matter development: A cross-sectional study. *Neuroimage* [Internet]. 2013;82:77–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.090>
 132. O'Connor DL, Gibbins S, Kiss A, Bando N, Brennan-Donnan J, Ng E, et al. Effect of supplemental donor human milk compared with preterm formula on neurodevelopment of very low-birth-weight infants at 18 months: A randomized clinical trial. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2016;316(18):1897–905.
 133. Clarke J. Observations on Some Causes of the Excess of the Mortality of Males above That of Females. *L Med J*. 1788;9(Pt 2):179–200.
 134. Hassold T, Quillen SD, Yamane JA. Sex ratio in spontaneous abortions. *Ann Hum Genet*. 1983;47(1):39–47.
 135. Cooperstok M, Campbell J. Excess males in preterm birth: interactions with gestational age, race, and multiple birth. *Obs Gynecol*. 1996;88(2):189–93.
 136. Nielsen HC, Zinman HM, Torday JS. Dihydrotestosterone inhibits fetal rabbit pulmonary surfactant production. *J Clin Invest*. 1982;69(3):611–6.
 137. Di Renzo GC, Rosati A, Sarti RD, Cruciani L, Cutuli AM. Does fetal sex affect pregnancy outcome? *Gend Med*. 2007;4(1):19–30.

138. Binet ME, Bujold E, Lefebvre F, Tremblay Y, Piedboeuf B. Role of gender in morbidity and mortality of extremely premature neonates. *Am J Perinatol.* 2012;29(3):159–66.
139. Ito M, Tamura M, Namba F. Role of sex in morbidity and mortality of very premature neonates. *Pediatr Int.* 2017;59(8):898–905.
140. Alur P. Sex Differences in Nutrition, Growth, and Metabolism in Preterm Infants. *Front Pediatr.* 2019;7(February):1–9.
141. Alur P, Ramarao S. Sex differences in preterm nutrition and growth: the evidence from human milk associated studies. *J Perinatol.* 2022;(July 2021).
142. Fisscher Fumeaux CJ, Garcia-Rodenas CL, De Castro CA, Courtet-Compondu M-C, Thakkar SK, Beauport L, et al. Longitudinal Analysis of Macronutrient Composition Cohort Study. *Nutrients.* 2019;11(7):1525.
143. Da Costa THM, Haisma H, Wells JCK, Mander AP, Whitehead RG, Bluck LJC. How much human milk do infants consume? Data from 12 countries using a standardized stable isotope methodology. *J Nutr.* 2010;140(12):2227–32.
144. Poindexter BB, Langer JC, Dusick AM, Ehrenkranz RA. Early provision of parenteral amino acids in extremely low birth weight infants: Relation to growth and neurodevelopmental outcome. *J Pediatr.* 2006;148(3).
145. Christmann V, Roeleveld N, Visser R, Janssen AJWM, Reuser JJCM, van Goudoever JB, et al. The early postnatal nutritional intake of preterm infants affected neurodevelopmental outcomes differently in boys and girls at 24 months. *Acta Paediatr Int J Paediatr.* 2017;106(2):242–9.
146. Van Den Akker CHP, Te Braake FWJ, Weisglas-Kuperus N, Van Goudoever JB. Observational outcome results following a randomized controlled trial of early amino acid administration in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;59(6):714–9.
147. Tottman AC, Bloomfield FH, Cormack BE, Harding JE, Taylor J, Alsweiler JM. Sex-specific relationships between early nutrition and neurodevelopment in preterm infants. *Pediatr Res.* 2020;87(5):872–8.
148. Gormaz-Moreno M, Roqués Serradilla V, Dalmau J, Vento M, Vitoria Miñana I. Actividad de un banco de leche humana implantado en una unidad neonatal. *Acta pediátrica española.* 2011;69(6):283–9.
149. Calvo J, García Lara NR, Gormaz M, Peña M, Martínez Lorenzo MJ, Ortiz Murillo P, et al. Recommendations for the creation and operation of maternal milk banks

- in Spain. *An Pediatr.* 2018;89(1):65.e1-65.e6.
150. Arslanoglu S, Bertino E, Tonetto P, De Nisi G, Ambruzzi AM, Biasini A, et al. Guidelines for the establishment and operation of a donor human milk bank. *J Matern Neonatal Med.* 2010;23(SUPPL. 2):1–20.
 151. Hartmann BT, Pang WW, Keil AD, Hartmann PE, Simmer K. Best practice guidelines for the operation of a donor human milk bank in an Australian NICU. *Early Hum Dev.* 2007;83(10):667–73.
 152. Vázquez Román S, Alonso Díaz C, Medina López C, Bustos Lozano G, Martínez Hidalgo M V., Pallás Alonso CR. Setting up a donor milk bank within a neonatal unit. *An Pediatr.* 2009;71(4):343–8.
 153. AAP COMMITTEE ON NUTRITION, AAP SECTION ON BREASTFEEDING ACOFAN. Donor human milk for the high- risk infant: Preparation, safety, and usage options in the United States. *Pediatrics.* 2017;139(1):1–6.
 154. Parker MG, Stellwagen LM, Noble L, Kim JH, Poindexter BB, Puopolo KM. Promoting human milk and breastfeeding for the very low birth weight infant. *Pediatrics.* 2021;148(5).
 155. McCune S, Perrin MT. Donor Human Milk Use in Populations Other than the Preterm Infant: A Systematic Scoping Review. *Breastfeed Med.* 2021;16(1):8–20.
 156. Merjaneh N, Williams P, Inman S, Schumacher M, Ciurte A, Smotherman C, et al. The impact on the exclusive breastfeeding rate at 6 months of life of introducing supplementary donor milk into the level 1 newborn nursery. *J Perinatol [Internet].* 2020;40(7):1109–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41372-020-0657-6>
 157. Chantry C, Dewey K, Peerson J, Wagner E, Nommsen- Rivers L. In-hospital formula use increases early breastfeeding cessation among first-time mothers intending to exclusively breastfeed. *J Pediatr.* 2014;164(6):1339–45.
 158. Munn AC, Newman SD, Mueller M, Phillips SM, Taylor SN. The Impact in the United States of the Baby-Friendly Hospital Initiative on Early Infant Health and Breastfeeding Outcomes. *Breastfeed Med.* 2016;11(5):222–30.
 159. Johnson TJ, Berenz A, Wicks J, Esquerra-zwiers A, Sulo KS, Gross ME, et al. The Economic Impact of Donor Milk in the Neonatal Intensive Care Unit. *J Pediatr.* 2020;224:57–65.
 160. Arnold LDW. The Cost-effectiveness of Using Banked Donor Milk in the Neonatal Intensive Care Unit: Prevention of Necrotizing Enterocolitis. *J Hum*

- Lact. 2002;18(2):172–7.
161. Zanganeh M, Jordan M, Mistry H. A systematic review of economic evaluations for donor human milk versus standard feeding in infants. *Matern Child Nutr.* 2021;17(2):2861.
 162. Meier P, Patel A, Esquerra-Zwiers A. Donor Human Milk Update: Evidence, Mechanisms, and Priorities for Research and Practice. *J Pediatr* [Internet]. 2017;180:15–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.09.027>
 163. Murray L, Anggrahini SM, Woda RR, Ayton JE, Beggs S. Exclusive Breastfeeding and the Acceptability of Donor Breast Milk for Sick, Hospitalized Infants in Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia: A Mixed-Methods Study. *J Hum Lact.* 2016;32(3):438–45.
 164. El-Khuffash A, Unger S. The concept of milk kinship in Islam: Issues raised when offering preterm infants of Muslim families donor human milk. *J Hum Lact.* 2012;28(2):125–7.
 165. Esquerra-Zwiers A, Rossman B, Meier P, Engstrom J, Janes J, Patel A. It's Somebody Else's Milk: Unraveling the Tension in Mothers of Preterm Infants Who Provide Consent for Pasteurized Donor Human Milk. *J Hum Lact.* 2016;32(1):95–102.
 166. Williams T, Nair H, Simpson J, Embleton N. Use of Donor Human Milk and Maternal Breastfeeding Rates: A Systematic Review. *J Hum Lact.* 2016;32(2):212–20.
 167. Arslanoglu S, Moro GE, Bellù R, Turolì D, De Nisi G, Tonetto P, et al. Presence of human milk bank is associated with elevated rate of exclusive breastfeeding in VLBW infants. *J Perinat Med.* 2013;41(2):129–31.
 168. Kantorowska A, Wei JC, Cohen RS, Lawrence RA, Gould JB, Lee HC. Impact of donor milk availability on breast milk use and necrotizing enterocolitis rates. *Pediatrics.* 2016;137(3).
 169. Tudehope DI. Human milk and the nutritional needs of preterm infants. *J Pediatr.* 2013;162(3 SUPPL.).
 170. García-Muñoz Rodrigo F, García-Alix Pérez A, Figueras Aloy J, Saavedra Santana P. Nuevas curvas poblacionales de crecimiento en recién nacidos extremadamente prematuros españoles. *An Pediatr.* 2014;81(2):107–14.
 171. Villar J, Giuliani F, Bhutta ZA, Bertino E, Ohuma EO, Ismail LC, et al. Postnatal growth standards for preterm infants: The Preterm Postnatal Follow-up Study of

- the INTERGROWTH-21stProject. *Lancet Glob Heal.* 2015;3(11):e681–91.
172. Tuzun F, Yucesoy E, Baysal B, Kumral A, Duman N, Ozkan H. Comparison of INTERGROWTH-21 and Fenton growth standards to assess size at birth and extrauterine growth in very preterm infants. *J Matern Neonatal Med.* 2018;31(17):2252–7.
 173. Members of the WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards. *Dev Med Child Neurol.* 2009;51(12):1002–1002.
 174. Ong KKL, Ahmed ML, Emmett PM, Preece MA, Dunger DB. Early catch-up growth is a risk factor for childhood obesity. *Bmj.* 2000;320(7240):967–71.
 175. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weight less than 1500 gr. *J Pediatr.* 1978;92(4):529–34.
 176. Shepherd JL, Noori S. What is a hemodynamically significant PDA in preterm infants? *Congenit Heart Dis.* 2019;14(1):21–6.
 177. Arslanoglu S, Moro GE, Ziegler EE. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: Does it make a difference? *J Perinatol.* 2006;26(10):614–21.
 178. Utrera Torres MI, Medina López C, Vázquez Román S, Alonso Díaz C, Cruz-Rojo J, Fernández Cooke E, et al. Does opening a milk bank in a neonatal unit change infant feeding practices? A before and after study. *Int Breastfeed J.* 2010;5(December 2007):1–5.
 179. Boyd CA, Quigley MA, Brocklehurst P. Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: Systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007;92(3):169–75.
 180. Madore LS, Bora S, Erdei C, Jumani T, Dengos AR, Sen S. Effects of Donor Breastmilk Feeding on Growth and Early Neurodevelopmental Outcomes in Preterm Infants: An Observational Study. *Clin Ther [Internet].* 2017;39(6):1210–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.05.341>
 181. Fernández Medina IM, Fernández-Sola C, López-Rodríguez MM, Hernández-Padilla JM, Jiménez Lasserrotte MDM, Granero-Molina J, et al. Barriers to Providing Mother’s Own Milk to Extremely Preterm Infants in the NICU. *Adv Neonatal Care.* 2019;19(5):349–60.
 182. Fernández Medina IM, Granero-Molina J, Fernández-Sola C, Hernández-Padilla JM, Camacho Ávila M, López Rodríguez M del M. Bonding in neonatal intensive care units: Experiences of extremely preterm infants’ mothers. *Women and Birth.*

- 2018;31(4):325–30.
183. Hill PD, Aldag JC, Chatterton RT, Zinaman M. Primary and secondary mediators' influence on milk output in lactating mothers of preterm and term infants. *J Hum Lact.* 2005;21(2):138–50.
 184. Ikonen R, Paavilainen E, Helminen M, Kaunonen M. Preterm infants' mothers' initiation and frequency of breast milk expression and exclusive use of mother's breast milk in neonatal intensive care units. *J Clin Nurs.* 2018;27:3–4.
 185. Maastrup R, Hansen BM, Kronborg H, Bojesen SN, Hallum K, Frandsen A, et al. Factors associated with exclusive breastfeeding of preterm infants. Results from a prospective national cohort study. *PLoS One.* 2014;9(2).
 186. Verd S, Porta R, Botet F, Gutiérrez A, Ginovart G, Herranz Barbero A, et al. Hospital outcomes of extremely low birth weight infants after introduction of donor milk to supplement mother's milk. *Breastfeed Med.* 2015;10(3):150–5.
 187. Sisk PM, Lambeth TM, Rojas MA, Lightbourne T, Barahona M, Anthony E, et al. Necrotizing Enterocolitis and Growth in Preterm Infants Fed Predominantly Maternal Milk, Pasteurized Donor Milk, or Preterm Formula: A Retrospective Study. *Am J Perinatol.* 2017;34(7):676–83.
 188. Stoll B, Hansen N, Bell E, Walsh M, Carlo W, Shankaran S, et al. Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993–2012. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2015;314(10):1039–51.
 189. Silano M, Milani GP, Fattore G, Agostoni C. Donor human milk and risk of surgical necrotizing enterocolitis: A meta-analysis. *Clin Nutr.* 2019;38(3):1061–6.
 190. De Silva A, Jones PW, Spencer SA. Does human milk reduce infection rates in preterm infants? A systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004;89(6):509–13.
 191. Furman L, Taylor G, Minich N, Hack M. The effect of maternal milk on neonatal morbidity of very low-birth-weight infants. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2003;157(1):66–71.
 192. Hylander MA, Strobino DM, Dhanireddy R. Human milk feedings and infection among very low birth weight infants. *Pediatrics.* 1998;102(3).
 193. Hair AB, Peluso AM, Hawthorne KM, Perez J, Smith DP, Khan JY, et al. Beyond Necrotizing Enterocolitis Prevention: Improving Outcomes with an Exclusive Human Milk-Based Diet. *Breastfeed Med.* 2016;11(2):70–4.
 194. Dauncey MJ, Bicknell RJ. Nutrition and neurodevelopment: mechanisms of

- developmental dysfunction and disease in later life. *Nutr Res Rev.* 1999;12(2):231–53.
195. Embleton NE, Pang N, Cooke RJ. Postnatal malnutrition and growth retardation: An inevitable consequence of current recommendations in preterm infants? *Pediatrics.* 2001;107(2):270–3.
 196. Ranade SC, Rose A, Rao M, Gallego J, Gressens P, Mani S. Different types of nutritional deficiencies affect different domains of spatial memory function checked in a radial arm maze. *Neuroscience.* 2008;152(4):859–66.
 197. Miller J, Tonkin E, Damarell RA, McPhee AJ, Suganuma M, Suganuma H, et al. A systematic review and meta-analysis of human milk feeding and morbidity in very low birth weight infants. *Nutrients.* 2018;10(6):1–35.
 198. Montjoux-Régis N, Cristini C, Arnaud C, Glorieux I, Vanpee M, Casper C. Improved growth of preterm infants receiving mother’s own raw milk compared with pasteurized donor milk. *Acta Paediatr Int J Paediatr.* 2011;100(12):1548–54.
 199. Brownell EA, Matson AP, Smith KC, Moore JE, Esposito PA, Lussier MM, et al. Dose-response Relationship between Donor Human Milk, Mother’s Own Milk, Preterm Formula, and Neonatal Growth Outcomes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;67(1):90–6.
 200. Brownell EA, Smith KC, Cornell EL, Esposito PA, Wiley CC, Wang Z, et al. Five-Year Secular Trends and Predictors of Nonconsent to Receive Donor Milk in the Neonatal Intensive Care Unit. *Breastfeed Med.* 2016;11(6):281–5.
 201. Clark RH, Thomas P, Peabody J. Extrauterine growth restriction remains a serious problem in prematurely born neonates. *Pediatrics.* 2003;111(5 I):986–90.
 202. Horbar JD, Ehrenkranz RA, Badger GJ, Edwards EM, Morrow KA, Soll RF, et al. Weight growth velocity and postnatal growth failure in infants 501 to 1500 Grams: 2000-2013. *Pediatrics.* 2015;136(1):e84–92.
 203. García-Muñoz Rodrigo F, Figueras Aloy J, Saavedra Santana P, García-Alix A. Crecimiento posnatal hasta el alta hospitalaria en recién nacidos extremadamente prematuros españoles. *An Pediatría.* 2017;87(6):301–10.
 204. Avila-Alvarez A, Solar Boga A, Bermúdez-Hormigo C, Fuentes Carballal J. Restricción del crecimiento extrauterino en recién nacidos de menos de 1.500 gramos de peso al nacer☆. *An Pediatría.* 2018;89(6):325–32.
 205. Olhager E, Forsum E. Total energy expenditure, body composition and weight gain in moderately preterm and full-term infants at term postconceptional age. *Acta*

- Paediatr Int J Paediatr. 2003;92(11):1327–34.
206. Arslanoglu S, Moro GE, Ziegler EE. Preterm infants fed fortified human milk receive less protein than they need. *J Perinatol*. 2009;29(7):489–92.
 207. Kashyap S, Schulze KF, Forsyth M, Zucker C, Dell RB, Ramakrishnan R, et al. Growth, nutrient retention, and metabolic response in low birth weight infants fed varying intakes of protein and energy. *J Pediatr*. 1988;113(4):713–21.
 208. McLeod G, Sherriff J, Hartmann PE, Nathan E, Geddes D, Simmer K. Comparing different methods of human breast milk fortification using measured v. assumed macronutrient composition to target reference growth a randomised controlled trial. *Br J Nutr*. 2016;115(3):431–9.
 209. Polberger S, Rähä NCR, Juvonen P, Moro GE, Minoli I, Warm A. Individualized protein fortification of human milk for preterm infants: Comparison of ultrafiltrated human milk protein and a bovine whey fortifier. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999;29(3):332–8.
 210. Gianni ML, Consonni D, Liotto N, Roggero P, Morlacchi L, Piemontese P, et al. Does human milk modulate body composition in late preterm infants at term-corrected age? *Nutrients*. 2016;8(10):1–10.
 211. Ramel SE, Gray HL, Christiansen E, Boys C, Georgieff MK, Demerath EW. Greater early gains in fat-free mass, but not fat mass, are associated with improved neurodevelopment at 1 year corrected age for prematurity in very low birth weight preterm infants. *J Pediatr* [Internet]. 2016;173:108–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.03.003>
 212. Bell KA, Matthews LG, Cherkerzian S, Palmer C, Drouin K, Pepin HL, et al. Associations of Growth and Body Composition with Brain Size in Preterm Infants. *J Pediatr* [Internet]. 2019;214:20-26.e2. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2019.06.062>
 213. Wiechers C, Avellina V, Luger B, Böckmann K, Minarski M, Maas C, et al. Body Composition of Preterm Infants following Rapid Transition to Enteral Feeding. *Pediatrics*. 2022;17:1–9.
 214. Hamatschek C, Yousuf EI, Möllers LS, So HY, Morrison KM, Fusch C, et al. Fat and fat-free mass of preterm and term infants from birth to six months: A review of current evidence. *Nutrients*. 2020;12(2).
 215. Horta BL, Loret De Mola C, Victora CG. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes:

- A systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2015;104:30–7.
216. Victora CG, Bahl R, Barros AJD, França GVA, Horton S, Krasevec J, et al. Breastfeeding in the 21st century: Epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* [Internet]. 2016;387(10017):475–90. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01024-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01024-7)
 217. Li Y, Liu X, Modi N, Uthaya S. Impact of breast milk intake on body composition at term in very preterm babies: Secondary analysis of the Nutritional Evaluation and Optimisation in Neonates randomised controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2018;104(3):F306–12.
 218. Li Y, Liu X, Modi N, Uthaya S. Impact of breast milk intake on body composition at term in very preterm babies: Secondary analysis of the Nutritional Evaluation and Optimisation in Neonates randomised controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019;104(3):F306–12.
 219. Visuthranukul C, Abrams SA, Hawthorne KM, Hagan JL, Hair AB. Premature small for gestational age infants fed an exclusive human milk-based diet achieve catch-up growth without metabolic consequences at 2 years of age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019;104(3):F242–7.
 220. Rozé JC, Darmaun D, Boquien CY, Flamant C, Picaud JC, Savagner C, et al. The apparent breastfeeding paradox in very preterm infants: Relationship between breast feeding, early weight gain and neurodevelopment based on results from two cohorts, EPIPAGE and LIFT. *BMJ Open*. 2012;2(2):1–9.
 221. Belfort MB, Inder TE. Human Milk and Preterm Infant Brain Development: A Narrative Review. *Clin Ther* [Internet]. 2022;44(4):612–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2022.02.011>
 222. Pogribna U, Yu X, Burson K, Zhou Y, Lasky RE, Narayana PA, et al. Perinatal Clinical Antecedents of White Matter Microstructural Abnormalities on Diffusion Tensor Imaging in Extremely Preterm Infants. *PLoS One*. 2013;8(8).
 223. Blesa M, Sullivan G, Anblagan D, Telford EJ, Quigley AJ, Sparrow SA, et al. Early breast milk exposure modifies brain connectivity in preterm infants. *Neuroimage* [Internet]. 2019;184(September 2018):431–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.09.045>
 224. Euser AM, Finken MJJ, Keijzer-Veen MG, Hille ETM, Wit JM, Dekker FW. Associations between prenatal and infancy weight gain and BMI, fat mass, and fat

- distribution in young adulthood: A prospective cohort study in males and females born very preterm. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2005;81(2):480–7. Available from: <https://doi.org/10.1093/ajcn.81.2.480>
225. Cho JI, Carlo WA, Su X, McCormick KL. Associations between salivary testosterone and cortisol levels and neonatal health and growth outcomes. *Early Hum Dev*. 2012;88(10):789–95.
226. Gianni ML, Roggero P, Liotto N, Amato O, Piemontese P, Morniroli D, et al. Postnatal catch-up fat after late preterm birth. *Pediatr Res*. 2012;72(6):637–40.

ANEXOS

Article

Availability of Donor Milk for Very Preterm Infants Decreased the Risk of Necrotizing Enterocolitis without Adversely Impacting Growth or Rates of Breastfeeding

Déborá Cañizo Vázquez ¹, Sandra Salas García ^{2,*}, Montserrat Izquierdo Renau ¹  and Isabel Iglesias-Platas ¹ 

¹ Neonatology Department, Hospital Sant Joan de Déu, Universidad de Barcelona, BCNatal, 08950 Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain

² Neonatology Department, Hospital General Universitari Castelló, 12004 Castelló de la Plana, Spain

* Correspondence: sandrasalas33@gmail.com; Tel.: +34-689-951-982

Received: 11 July 2019; Accepted: 9 August 2019; Published: 14 August 2019



Abstract: Human milk contains non-nutritional factors that promote intestinal maturation and protect against infectious and inflammatory conditions. In the Neonatal Intensive Care Unit (NICU) setting, donor milk (DM) is recommended when availability of own mother's milk (OMM) is not enough. Our aim was to compare the incidence of necrotizing enterocolitis (NEC) and late-onset sepsis (LOS) in very preterm infants (VPI) after the introduction of DM. Growth and breastfeeding rates were examined as secondary outcomes. Single center, observational and retrospective cohort study comparing 227 VPI admitted to our neonatal unit before (Group 1, $n = 99$) and after (Group 2, $n = 128$) DM introduction. Enteral nutrition was started earlier after DM availability (2.6 ± 1.1 vs. 2.1 ± 1 days, $p = 0.001$). Incidence of NEC decreased in group 2 (9.1% vs. 3.4%, $p = 0.055$), especially in those born between 28 and 32 weeks (5.4 vs. 0.0%, $p = 0.044$). Surgical NEC was also less frequent. Suffering NEC was 4 times more likely in group 1 (multivariate analysis). Availability of DM did not impact breastfeeding rates or preterm growth. Our findings support the protective role of DM against NEC, particularly in non-extreme VPI, a group less frequently included in clinical guidelines and research studies on the use of DM.

Keywords: preterm infant; human milk; donor human milk; formula feeding; breastfeeding; necrotizing enterocolitis; growth

1. Introduction

The benefits of breastmilk for both mother and infant are well established [1,2]. Breast milk should be the first choice for feeding premature and low-birth weight newborns. Necrotizing enterocolitis (NEC) and late-onset sepsis (LOS) are infectious-inflammatory diseases of premature infants with a high rate of mortality, even today [3,4]. Breast milk has been shown to act as a preventative factor [5,6] and it is postulated that this is through several non-nutritional factors, such as immunoglobulins, growth factors and substances with antioxidant capacity [7,8]. Some of these compounds play a role in modulation of the immune system and in the pathophysiology of these and other diseases [7–11].

Establishing and maintaining an appropriate milk supply after preterm birth comes with its own challenges, including maternal illness, the need for artificial expression and stress surrounding separation from and worry about the well-being of the child [12]. International scientific societies recommend donor milk (DM) as the first alternative when the available quantity of own mother's milk (OMM) is not enough to cover the nutritional requirements of the premature infant [13].

It is unclear whether the advantages of pasteurized human milk can be similar to those of OMM. Pasteurization does not alter caloric or macronutrient content, but there is controversy about how it does affect other biologically active components, such as IgA, lysozyme, lactoferrin, lymphocytes, lipase, alkaline phosphatase, cytokines (like IL10), growth factors and antioxidant capacity [8,14–16]. Several studies have shown a protective effect of DM against NEC [6,17] and an improvement in feeding tolerance [7,18] when comparing with formula feeding, and systematic reviews of published data find a decreased incidence of bronchopulmonary dysplasia (BPD) [19] and LOS [6]. Some even suggest better neurodevelopmental and cardiovascular outcomes with the use of DM [20,21].

Although growth of premature infants fed DM (especially if unfortified) might be slower when compared to formula-fed counterparts, no long-term nutritional compromise has been described [7]. Another concern that arose with the use of milk banks was that donor milk could threaten the motivation of the staff to provide support or the commitment of mothers to provide milk for their infants, but this does not seem to be the case [22].

The aim of this study was to compare the incidence of clinical complications (NEC and LOS) in very preterm infants (VPI) (≤ 32 weeks gestational age at birth) before and after the introduction of DM instead of artificial formula to supplement OMM when necessary. Rates of growth and breastfeeding in both groups were examined as secondary outcomes.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

Single center, observational retrospective cohort study of VPI admitted to a level III intensive care unit. The cohorts were defined by the use of premature artificial formula (Group 1) or donor milk (Group 2) for enteral feeding in the absence of enough OMM. Sample size was calculated to detect a reduction in the incidence of a composite outcome of NEC or LOS to a third (based on literature reports) of the basal figure of about 25% in our population of VPI. The estimated sample size was 82 patients per group for a confidence level of 95% with an 80% statistical power.

All subjects gave their informed consent for inclusion before they participated in the study. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the local Ethics Committee (Fundació Sant Joan de Déu Ethics Committee; PIC-20-16).

2.2. Patients

Babies born at or before 32 completed weeks of gestational age were considered eligible. Inclusion criteria: Admission before 24 h of life and survival for longer than a week. Exclusion criteria: Major congenital malformations, chromosomal, genetic or metabolic abnormalities or the absence of clinical records. Group 1 comprised the 2 years before (2009–2010) and group 2 the 2 years after (2012–2013) the introduction of DM in our unit. The year of overlap (2011) was considered as an implementation period and not taken into consideration for the analysis. Clinical and growth variables as well as nutritional supplies were extracted from clinical charts.

2.3. Clinical Protocols

Nutritional management of VPI in our unit follows local written guidelines in accordance to international recommendations. In short and as previously described [23], parenteral nutrition (PN) is started immediately after birth through a central line for the provision of 2.5 g/kg of protein and 62 kcal/kg, with stepwise increases reaching 3.5–4 g/kg of protein and 100 kcal/kg depending on metabolic tolerance and progression of enteral feeding. Enteral nutrition is started as soon as possible depending on clinical condition of the patient. Own mother's milk is the first option. The difference between groups 1 and 2 was the supplementation with a preterm formula (Alprem[®], Nestlé, Switzerland) or DM respectively, when the volume of enteral feeding prescribed was higher than the mother's milk supply. Donor milk is maintained if needed until one month of age if the baby is born

under 28 weeks or 1000 g and during the first 3–7 days in newborns 28–32 weeks that are over 1 kg. All human milk was fortified (Enfamil® Human Milk Fortifier Powder, Mead Johnson, Chicago, IL, USA) from an intake of 80–100 mL/kg/day.

There were no other changes in clinical protocols for any other areas of care in the unit during the study period.

2.4. Study Variables

Nutrition and growth: Volumes of enteral and parenteral nutrition administered were extracted from clinical charts. Macronutrients were calculated assuming standard compositions of preterm and term milk [24] or from manufacturer's information and considering the PN prescription. Nutritional supply was recorded daily for the first 14 days of life and again at 28 days and at 36 weeks postmenstrual age (PMA). Information on start of enteral feeding, achievement of full enteral nutrition and rates of OMM at 7, 14, 28 days of life, at full enteral nutrition and at discharge was also registered.

Weight was evaluated at admission, day 14 and day 28 of life and at 36 weeks PMA. We also collected data on minimum weight, days to maximum initial weight loss and days to regain birth weight. Length and head circumference (HC) data were available at birth and discharge. To allow for comparisons at different gestational ages, measurements of anthropometric parameters were transformed into z-scores for gestational age using local intrauterine growth standards [25,26].

Clinical variables: The main complications of prematurity were studied as clinical outcomes. A baby was considered to have NEC if fulfilling criteria compatible with Bell's stage 2 or higher [27]. Late-onset sepsis was defined as the presence of a positive culture of blood or a sterile fluid on or after the fourth day of life. Intraventricular hemorrhage was graded according to Papile et cols [28]. Patent ductus arteriosus (PDA) was diagnosed as the presence of clinical signs (heart murmur, hyperdynamic precordial impulse, full pulses, widened pulse pressure, and/or worsening of the respiratory status) with a ductal right-to-left shunt in the echocardiography. Bronchopulmonary dysplasia was defined as need for oxygen for more than 28 days. Retinopathy of prematurity (ROP) was staged according to the International Committee for classification of ROP [29] and considered as severe if requiring laser therapy.

2.5. Statistical Analysis

All data were analyzed with the SPSS® (Statistical Package for Social Sciences, IBM, Chicago, IL, USA) software, v17. Qualitative variables were expressed as frequencies or percentages and quantitative variables as means and standard deviations. Comparisons between Groups 1 and 2 were performed by chi-square and student *t* tests as appropriate. Differences were considered significant if *p*-values were <0.05. Logistic regression models were used to analyze the risk of NEC in Groups 1 and 2 while adjusting for relevant covariates.

A secondary analysis for the groups ≤ 28 weeks and >28 weeks was performed on the basis of a higher risk of developing NEC among the extremely premature babies and because, as stated before, the protocol for administration of donor milk in our unit was different in the under and over 28 weeks groups (longer duration in the former).

3. Results

3.1. Description of the Sample

A total of 256 VPI were admitted to our unit during their first 24 h of life in the study period. Of them, 23 had exclusion criteria, leaving a total of 227 for analysis, 99 in Group 1 (before availability of DM) and 128 in Group 2 (after availability of DM) (Figure 1). Basal characteristics of the sample are summarized in Table 1. There were no differences between groups regarding gestational age, gender, multiparity, cesarean section, percentage of children with intrauterine growth restriction or severity

of illness on admission as assessed by CRIB (Clinical Ric Index for Babies) score. Birth weight was slightly lower in Group 2, with no differences in z score (Table 1).

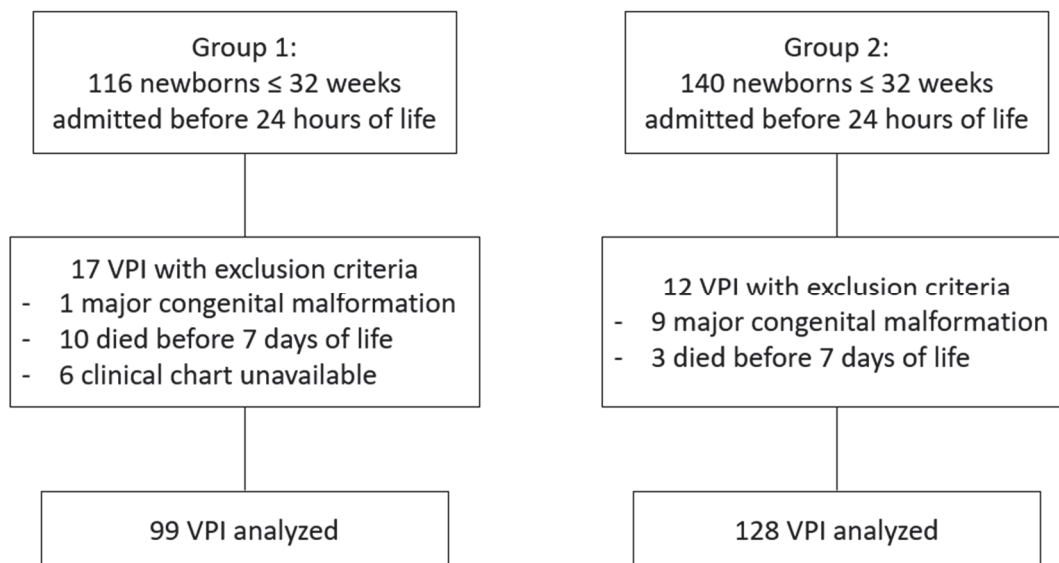


Figure 1. Flowchart of study participation.

3.2. Enteral Nutrition Was Started Earlier after Availability of DM

The start of enteral nutrition happened about half a day earlier in Group 2 (2.6 ± 1.1 vs. 2.1 ± 1.0 days, $p = 0.001$) and the percentage of fasted babies was lower on days of life 1 and 2 in Group 2. This did not impact age or milk volume at full enteral nutrition, days on parenteral nutrition or milk volumes fed during the 1st and 2nd weeks of life or at day 28 (Figure 2). There was a trend for a higher percentage of patients receiving only human milk on days 14 and 28 of life after the introduction of DM (65.2% vs. 76.9%, $p = 0.066$ and 62.9% vs. 75.2%, $p = 0.065$ respectively). This was significant for babies ≤ 28 weeks on day 14 (75.0% vs. 100.0%, $p = 0.004$). Nutrition during the second week of life and thereafter was homogenous between groups. During the first week we found small but significant differences in parenteral nutrition. Total fluid volume was higher in Group 1 (104.6 ± 11.0 vs. 96.3 ± 15.2 , $p < 0.001$) and intravenous lipids (1.6 ± 0.7 vs. 1.9 ± 0.6 , $p = 0.014$) were higher in Group 2. Total calories (78.4 ± 8.8 vs. 81.0 ± 9.1 , $p = 0.035$) and protein (2.9 ± 0.4 vs. 3.0 ± 0.4 , $p = 0.096$) were higher in Group 2.

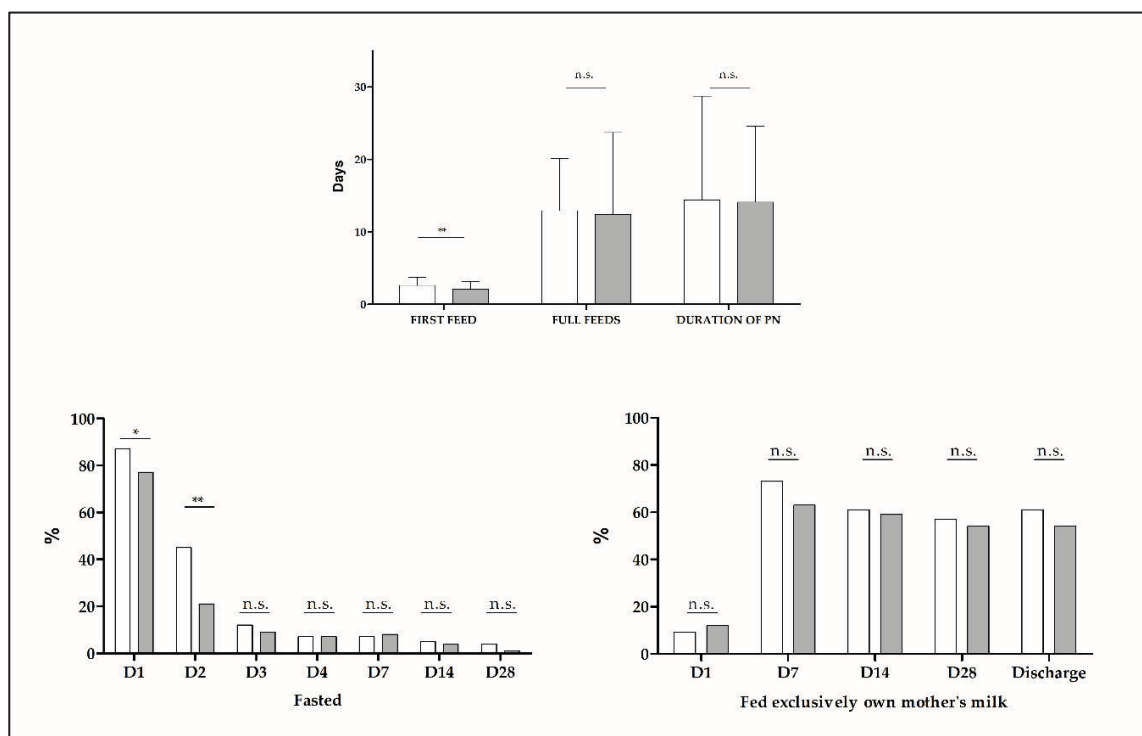


Figure 2. Summary of nutritional characteristics of very preterm infants (VPI) in G1 (white) and G2 (grey). * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; n.s.: non-significant (p -value > 0.05). G1: Group 1, G2: Group 2, D: Day of life, PN: Parenteral nutrition.

3.3. Breastfeeding Rates Did Not Change with the Introduction of Donor Milk

The percentage of children receiving their OMM was the same in both groups (Table 2). We have a rate of exclusive breastfeeding at discharge of 56.8% (60.6% in ≤ 28 weeks and 53.9% in > 28 weeks).

3.4. Rates of Early Growth Were Better in Group 2

The percentage of weight loss immediately after birth was smaller in Group 2, due to differences in patients ≤ 28 weeks at birth (Table 2). There were no differences in age at minimum weight or days to recover birthweight. Fall in weight z-scores at 28 day of life (dol) was smaller in Group 2 than in Group 1, while no changes were seen at 36 weeks of PMA or discharge. In a multivariate analysis by linear regression, the group in which the patient was born was one of the determinants for fall in weight z-score at 28 dol after adjustment for confounders (Table S1). There were no differences between sexes in the growth and nutritional outcomes analyzed (data not shown).

3.5. The Incidence of Necrotizing Enterocolitis Decreased after the Introduction of DM

We found no differences between groups regarding ventilatory support, incidence of BPD, severe retinopathy or intraventricular hemorrhage. The rate of LOS was similar between groups and the same was true for duration of antibiotic treatment, days of central line and parenteral nutrition (Table 3). The incidence of NEC was slightly lower in Group 2 (9.1% vs. 3.4%, $p = 0.055$), especially in the group with a gestational age between 28 and 32 weeks at birth (5.4 vs. 0.0%, $p = 0.044$). Mortality was similar in both groups (4.0% vs. 5.5%, $p = 0.619$), but a history of NEC tended to be more frequent among very preterm babies that died in Group 1 (75.0% vs. 14.3%, $p = 0.088$). Surgical NEC was more frequent in G1 (5/99, 5.0% vs. 1/128, 0.8%), but this was not statistically significant ($p = 0.308$). An analysis of the risk of NEC in both groups including possible confounders showed that the odds of suffering NEC was 4 times higher before the introduction of DM (Table S2). There were no differences between boys and girls (data not shown).

Table 1. Comparison of basal characteristics of the patients from groups 1 and 2.

	Whole Sample			Gestational Age ≤ 28 Weeks			Gestational Age > 28 Weeks		
	Group 1 (n = 99)	Group 2 (n = 128)	<i>p</i>	Group 1 (n = 26)	Group 2 (n = 43)	<i>p</i>	Group 1 (n = 73)	Group 2 (n = 85)	<i>p</i>
	Mean ± SD			Mean ± SD			Mean ± SD		
Gestational age (weeks)	29.5 ± 2.3	29.1 ± 2.3	0.227	26.2 ± 1.3	26.3 ± 1.3	0.853	30.7 ± 1.1	30.5 ± 1.2	0.180
Birth weight (g)	1283 ± 393	1197 ± 370	0.095	844 ± 183	854 ± 210	0.759	1439 ± 323	1371 ± 306	0.499
Birth weight z score	0.11 ± 0.87	−0.14 ± 0.93	0.204	0.05 ± 0.98	−0.12 ± 1.05	0.516	−0.00 ± 0.83	−0.16 ± 0.87	0.261
CRIB (Clinical Ric Index for Babies) score	2.2 ± 3.0	2.8 ± 3.1	0.188	5.5 ± 3.8	5.1 ± 3.3	0.622	1.0 ± 1.4	1.6 ± 2.1	0.062
	<i>n</i> (%)			<i>n</i> (%)			<i>n</i> (%)		
Gender (boy)	56 (56.6%)	69 (53.9%)	0.690	14 (53.8%)	23 (53.5%)	0.977	42 (57.5%)	46 (54.1%)	0.666
Intrauterine growth restriction (IUGR)	18 (18.2%)	15 (11.7%)	0.171	7 (26.9%)	4 (9.3%)	0.087	11 (15.2%)	11 (12.9%)	0.700
Small for gestational age (SGA)	7 (7.2%)	10 (8.6%)	0.706	3 (11.5%)	4 (10.0%)	1.000	4 (5.6%)	6 (7.9%)	0.747
Multiple pregnancy	39 (39.4%)	47 (36.7%)	0.771	8 (30.8%)	12 (27.9%)	0.800	31 (42.5%)	35 (41.2%)	0.870
Cesarean section	55 (55.6%)	86 (67.2%)	0.073	17 (65.4%)	29 (67.4%)	0.861	38 (52.1%)	57 (67.1%)	0.055
Prenatal steroid course (2 doses)	69 (69.7%)	79 (61.7%)	0.211	14 (53.8%)	29 (67.4%)	0.259	55 (75.3%)	50 (58.8%)	0.028

Table 2. Growth parameters of patients in Group 1 and 2.

Mean ± SD	Whole Sample			Gestational Age ≤ 28 Weeks			Gestational Age > 28 Weeks		
	Group 1 (n = 99)	Group 2 (n = 128)	<i>p</i>	Group 1 (n = 26)	Group 2 (n = 42)	<i>p</i>	Group 1 (n = 73)	Group 2 (n = 85)	<i>p</i>
Age at minimum weight (days)	3.8 ± 1.6	3.9 ± 1.5	0.612	3.9 ± 1.8	4.2 ± 1.7	0.517	3.8 ± 1.6	3.8 ± 1.4	0.982
% weight loss	11.4 ± 5.1	9.2 ± 8.6	0.026	13.8 ± 6.0	7.8 ± 5.5	<0.001	10.6 ± 4.5	10.0 ± 9.8	0.617
Age at recovery of birth weight (days)	11.1 ± 4.1	1.4 ± 5.1	0.287	11.5 ± 5.6	10.8 ± 6.9	0.663	11.0 ± 3.4	10.3 ± 3.9	0.230
Fall in weight z-score from birth to 28 dol	−1.18 ± 0.41	−0.96 ± 0.66	0.003	−1.33 ± 0.59	−0.91 ± 0.94	0.055	−1.13 ± 0.32	−0.98 ± 0.46	0.023
birth to 36 weeks PMA	−1.69 ± 0.79	−1.64 ± 0.70	0.652	−2.31 ± 0.95	−2.04 ± 0.76	0.217	−1.43 ± 0.53	−1.38 ± 0.51	0.588
birth to discharge	−1.42 ± 0.77	−1.42 ± 0.79	0.951	−1.96 ± 1.04	−1.86 ± 0.99	0.692	−1.23 ± 0.55	−1.21 ± 0.56	0.793

dol: Days of life, PMA: Postmenstrual age.

Table 3. Comparison of clinical outcomes between Group 1 and 2. Continuous variables are summarized as mean \pm standard deviation and compared by Student's *t* tests. Categorical variables are expressed as number and percentage and compared by chi-square tests or Fisher's exact tests as appropriate.

Clinical Outcomes During Admission	Whole Sample			Gestational Age \leq 28 Weeks			Gestational Age $>$ 28 Weeks		
	Group 1 (<i>n</i> = 99)	Group 2 (<i>n</i> = 128)	<i>p</i>	Group 1 (<i>n</i> = 26)	Group 2 (<i>n</i> = 43)	<i>p</i>	Group 1 (<i>n</i> = 73)	Group 2 (<i>n</i> = 85)	<i>p</i>
Days on mechanical ventilation	6.4 \pm 15.4	5.6 \pm 10.8	0.651	21.2 \pm 24.7	13.2 \pm 13.8	0.141	1.1 \pm 2.4	1.7 \pm 5.9	0.401
Days on non-invasive respiratory support	18.4 \pm 21.6	21.3 \pm 23.2	0.339	41.9 \pm 26.3	42.3 \pm 24.0	0.943	10.1 \pm 11.1	10.7 \pm 13.7	0.761
Days on oxygen	16.8 \pm 33.0	16.3 \pm 30.0	0.915	50.1 \pm 49.0	42.6 \pm 38.6	0.485	4.9 \pm 10.4	3.0 \pm 8.8	0.218
Days on antibiotics	10.8 \pm 12.7	12.7 \pm 12.9	0.267	24.4 \pm 17.7	23.8 \pm 14.4	0.884	6.0 \pm 4.6	7.1 \pm 7.2	0.253
Days on central line	14.4 \pm 14.3	14.1 \pm 10.5	0.864	25.0 \pm 21.8	21.7 \pm 12.2	0.420	9.4 \pm 5.8	10.4 \pm 5.0	0.247
Days on parenteral nutrition	13.5 \pm 13.9	14.2 \pm 9.7	0.658	25.8 \pm 23.4	23.1 \pm 12.8	0.542	10.3 \pm 4.9	9.6 \pm 4.7	0.308
Patent ductus arteriosus	44/99 (44.4%)	57/128 (44.5%)	0.990	21/26 (80.8%)	31/43 (72.1%)	0.418	23/73 (31.5%)	26/59 (30.6%)	0.901
Surgical patent ductus arteriosus	16/99 (16.2%)	11/128 (8.6%)	0.081	13/26 (50%)	10/43 (23.3%)	0.022	3/73 (4.1%)	1/85 (1.2%)	0.336
Necrotizing enterocolitis	9/99 (9.1%)	4/128 (3.1%)	0.055	5/26 (19.2%)	4/43 (9.3%)	0.282	4/73 (5.5%)	0/85 (0%)	0.044
Surgical necrotizing enterocolitis	5/9 (55.6%)	1/4 (25%)	0.308	1/26 (3.8%)	1/43 (2.3%)	1.000	0/73	0/85	-
Late-onset sepsis	18/99 (18.2%)	27/128 (21.1%)	0.585	14/26 (53.8%)	22/43 (51.2%)	0.829	4/73 (5.5%)	5/73 (5.9%)	0.913
Bronchopulmonary dysplasia	21/96 (21.9%)	28/124 (22.6%)	0.901	15/24 (62.5%)	25/39 (64.1%)	0.898	6/72 (8.3%)	3/85 (3.5%)	0.172
Retinopathy of prematurity (any stage)	27/87 (31%)	43/113 (38.1%)	0.302	19/23 (82.6%)	26/40 (65.0%)	0.136	8/64 (12.5%)	17/56 (23.3%)	0.103
Severe retinopathy of prematurity	5/81 (6.2%)	6/112 (5.4%)	0.809	5/23 (21.7%)	6/39 (15.4%)	0.732	0/58 (0%)	0/73 (0%)	-
Severe intraventricular hemorrhage (grade III-IV)	6/99 (6.1%)	12/128 (9.4%)	0.359	6/26 (23.1%)	9/43 (20.9%)	0.834	0/73 (0.0%)	3/85 (3.5%)	0.250
Death	4/99 (4%)	7/128 (5.5%)	0.619	3/26 (11.5%)	6/43 (14.0%)	1.000	1/73 (1.4%)	1/85 (1.2%)	1.000

4. Discussion

Enteral feeding with DM when own mother's milk is not available or is not enough has been associated with reduced mortality and a decrease in morbidity of VPI [6,18,19]. However, there is a concern about nutritional requirements of VPI fed with DM because artificial formula results in higher rates of weight gain and linear growth due to its greater amounts of nutrients. Preterm formulas are energy-enriched and variably protein and mineral-enriched when compared to mature human milk, and the nutrient content of donor milk may be further compromised by pasteurization [30]. Nevertheless, the role of an exclusive human milk diet is well recognized in the prevention of NEC and other severe complications like invasive infections. In a recent publication, this effect has been related to the presence of antioxidants in breast milk, and these could be impaired by DM processing [11].

Nowadays it remains unclear if DM has the same advantages as OMM and may have some disadvantages related to growth with respect to artificial formula. Our aim was to compare short-term outcomes of VPI admitted in our unit before and after the availability of DM, while also taking into account feeding and growth indicators.

Since the introduction of DM, there has been a reduction in both the percentage of VPI that are fasted in their first two days of life and in the age at initiation of enteral feeding, in line with other reports in the literature (16 h in Castellano Yañez et al., 12 h in our data) [31]. The results of an international survey published in 2012 [32] showed that when DM was available, the start of feedings was earlier and faster, maybe reflecting a better gastrointestinal tolerance to human milk when compared to artificial premature formula [18,30]. Despite this, we did not see a shortening in time on parenteral nutrition or at full enteral feedings. Our findings are similar to the data reported by Corpeleijn in 2016 [33] and might explain why, unlike others [6,34], we did not see a decrease in the incidence of LOS, which is consistent with other series [22,33,35].

There has been some degree of controversy regarding the impact of availability of DM on the rates of availability of own mother's milk, with either stability or increase being reported. In our unit, the introduction of banked milk did not change the percentage of exclusive breastfeeding at discharge, and this is in line with the observation in a slightly more mature population of preterms [31] as well as with the conclusion of a systematic review [36], which found no differences in exclusive administration of OMM on the first 28 days of life or at discharge. An Italian survey published in 2013 [13] describes that units where DM is available show higher rates of exclusive breastfeeding at discharge, although this might reflect baseline differences in the attitude towards human milk feeding. A multicentric Californian database analysis [37] observed an increase of about 10% in the rates of exclusive breastfeeding at discharge in infants under 1500 g admitted to Neonatal Intensive Care Units of mixed complexity after the introduction of DM; nevertheless, this increase was also seen in the same period of time among units that had no access to banked milk.

Milk produced by mothers that deliver preterm is richer in lipids, protein and calories [38] and is better suited for the needs of their infants regarding growth and neurodevelopment [39]. Even so, it is common practice in neonatal units to apply the same fortification protocol for OMM and DM, which is mainly supplied by mothers of term babies. This could be one of the reasons behind reported differences in growth in preterm babies fed OMM, DM and preterm formula [7,40]. A systematic review and metaanalysis [30], including 11 randomized controlled trials and 1809 patients concluded that preterms fed formula had faster rates of growth (weight, length and HC) when compared to the ones fed DM, whether exclusively or as a supplement of OMM. Interestingly, there were no differences in long term growth or neurodevelopment [30].

In our study, sequential weight, length and HC and their z-scores are similar between groups, contrary to previous reports [7,30,31,40]. What is more, the fall in weight z score at day 28 of life significantly decreased from group 1 to 2, although the difference was small (IC 95%: -1.18 ± 0.41 vs. -0.96 ± 0.66 , $p = 0.003$) and disappeared by discharge time. Due to known differences in nutritional content between preterm and banked milk, this must be explained by other factors. Sisk et al. [41] also found preserved growth rates at discharge, but their classification of groups by predominant milk

meant that babies in the DM group could be receiving up to 49% of their OMM. In our case, a detailed analysis exposes a slight but significant difference in early parenteral provision of nutrients, which has been shown to have an impact in growth during the first month [23].

Previous evidence points to a reduction of about 4% in the incidence and severity of NEC in VPI fed human milk [17,32,42], and this has been summarized recently [43]. It seems that the bigger the volume and the longer the duration of human milk feeding, the more impact in the occurrence of NEC [6]. Since the introduction of DM in our unit, we see a tendency to a decrease in the incidence of NEC, which is most prominent in babies born after 28 weeks of gestation, maybe because they are the ones that receive the most artificial formula (in the whole sample, 16.1% of babies born \leq 28 weeks received some volume of formula on day 28 of life vs. 37.8% of those born at $>$ 28 weeks, $p = 0.002$; this was 7.9% vs. 33.3%, respectively, in Group 2, $p = 0.003$). Mortality was similar before and after DM in our population as well as others [6,30], but we saw a history of NEC was more frequent in those who died in Group 1 when compared with Group 2. Surgical NEC was also less frequent in G2, although this was not statistically significant. The conclusion of a metaanalysis on the impact of DM on the risk of surgical NEC was in line with this result [44]. Interestingly, if we add our numbers to the ones reported (although the metaanalysis did not include observational studies), the incidence of surgical NEC would decrease from 5.2% in the group receiving formula to 1.8% in the group receiving DM, with a p -value of 0.002.

A recent metaanalysis [19] also describes a decrease in the incidence of BPD in DM fed versus formula fed preterm babies. Other multicentric studies [42] also found a decrease in days on mechanical ventilation or oxygen. Duration of invasive ventilation in extreme preterms (\leq 28 w) seemed shorter in Group 2, but the study was not powered to draw a conclusion. In any case, due to the before-after design of our study, this could merely reflect a global tendency to earlier extubation in neonatal care.

The presence of differences between sexes in the incidence of neonatal complications [45] and in growth responses to varied exposures [46] have been recently highlighted in the literature. As we mentioned, further analysis of our cohort showed that the same general conclusions apply to both sexes as well as to the whole population. When sex was introduced in the multivariate analysis, the final model did not vary and the contributing factors to NEC were gestational age, period of availability of donor milk and being SGA.

In this study, we contribute relevant information on morbidity, growth and breastfeeding outcomes of DM use in a third level neonatal unit. The single-center design should contribute to homogeneity on other aspects of care between groups. Although there is an increasing amount of literature about benefits of human milk when compared to artificial formulas, there is a high degree of variability in the methodology applied. There are differences in time windows analyzed (for example 10 days of life in Corpeleijn et al. [33]), the type of formula in the comparison group (4 standard term formula and 7 preterm formula in the 11 RCTs included in the 2018 Cochrane systematic review and metaanalysis [30]) or type of fortifier (human milk based vs. cow milk based [30]). Each center also has different criteria for the initiation, advancement and duration of DM feeding [47]. Our patients received DM under a pre-specified protocol, and we also include a detailed analysis of other growth and nutritional variables (like parenteral supply), which lacks in many other reports.

A remarkable finding of our study is that patients in the range from 28 to 32 weeks benefit more than those under 28 when using DM in terms of NEC-reduction under the conditions of our study. Most protocols of DM supplementation apply to patients born under 28 weeks GA. Even in our guidelines, patients under 28 are candidates for DM use for a longer period than those between 28 and 32 weeks. This makes us consider if this group (28–32 weeks GA) might be more sensitive to certain strategies for NEC prevention, including maybe, the use of DM, and if the results could improve with providing it for a longer time. Also, we did not find any differences in growth at discharge or in breastfeeding rates, which are two of the most reported undesired effects of using DM instead of formula for supplementation of OMM in the Neonatal Intensive Care Unit (NICU).

One of the limitations of our study is the available sample size. Also, the retrospective design does not allow for conclusions in causality. The pre- and post-period design rather than the analysis of actual intakes better reflects the impact of DM availability in a neonatal unit. Nevertheless, it should be taken into account that we have a moderately high rate of breastfeeding, so that more than half of the sample in both periods was receiving exclusively their OMM throughout admission, which might make it difficult to uncover any further differences between DM and formula. Another limitation is that the cause of preterm birth was not considered for the analysis. A higher risk of NEC has been described in some preterm subpopulations, like premature babies born after a period of intrauterine growth restriction (IUGR) [48] and they could benefit even more from the use of DM. Our study was not powered enough to detect differences in the effect of donor milk between different premature populations, which might be an area granting future attention.

5. Conclusions

Since the introduction of donor milk in our unit we have seen a reduction in NEC, particularly in the VPI between 28 and 32 weeks. We did not find significant differences in the incidence of other complications of prematurity or in rates of growth or breastfeeding.

Ours results support the evidence that donor milk feeding is safe and beneficial, not only for the most extreme premature babies, and that it can be implemented without impairment in nutritional outcomes while maintaining rates of breastfeeding.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6643/11/8/1895/s1>, Table S1: Multivariate analysis by linear regression of the determinants of fall in weight z-score at 28 day of life, Table S2: Multivariate analysis by logistic regression of the determinants of NEC.

Author Contributions: D.C.V. and S.S.G., reviewed the cases and collected the data, then collaborated in the data analysis. In addition, they reviewed the bibliography, prepared and wrote the first draft of this paper, and coordinated manuscript revisions and submission. M.I.R. and I.I.-P., planned and design the study, revised the methodology and led the statistical analysis. All the authors have seen and approved the final version.

Funding: This work is part of the project PI17/00107, from the National Plan of R+D+I and cofounded by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)—General Assistant Direction for Evaluation and Promotion of Health Research and the European Regional Development Fund (ERDF).

Acknowledgments: We would like to thank all participants and their families as well as all the clinical staff in the Neonatal Unit.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Morales, Y.; Schanler, R.J. Human Milk and Clinical Outcomes in VLBW Infants: How Compelling Is the Evidence of Benefit? *Semin. Perinatol.* **2007**, *31*, 83–88. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Schanler, R.J.; Shulman, R.J.; Lau, C. Feeding Strategies for Premature Infants: Beneficial Outcomes of Feeding Fortified Human Milk Versus Preterm Formula. *Pediatrics* **1999**, *103*, 1150–1157. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Frost, B.L.; Modi, B.P.; Jaksic, T.; Caplan, M.S. New Medical and surgical insights into neonatal necrotizing enterocolitis a review. *JAMA Pediatr.* **2017**, *171*, 83–88. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Shane, A.L.; Sánchez, P.J.; Stoll, B.J. Neonatal sepsis. *Lancet* **2017**, *390*, 1770–1780. [[CrossRef](#)]
5. Cacho, N.T.; Parker, L.A.; Neu, J. Necrotizing Enterocolitis and Human Milk Feeding: A Systematic Review. *Clin. Perinatol.* **2017**, *44*, 49–67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Miller, J.; Tonkin, E.; Damarell, R.A.; McPhee, A.J.; Suganuma, M.; Suganuma, H.; Middleton, P.F.; Makrides, M.; Collins, C.T. A Systematic Review and Meta-Analysis of Human Milk Feeding and Morbidity in Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients* **2018**, *10*, 707. [[CrossRef](#)]
7. Quigley, M.; McGuire, W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Libr.* **2014**, CD002971. [[CrossRef](#)]
8. Aksu, T.; Atalay, Y.; Türkyilmaz, C.; Gülbahar, Ö.; Hirfanoğlu, I.M.; Demirel, N.; Önal, E.; Ergenekon, E.; Koç, E. The effects of breast milk storage and freezing procedure on interleukine-10 levels and total antioxidant activity. *J. Matern. Neonatal Med.* **2015**, *28*, 1799–1802. [[CrossRef](#)]

9. Manti, S.; Lougaris, V.; Cuppari, C.; Tardino, L.; Dipasquale, V.; Arrigo, T.; Salpietro, C.; Leonardi, S. Breastfeeding and IL-10 levels in children affected by cow's milk protein allergy: A retrospective study. *Immunobiology* **2017**, *222*, 358–362. [[CrossRef](#)]
10. Arrigo, T.; Leonardi, S.; Cuppari, C.; Manti, S.; Lanzafame, A.; D'Angelo, G.; Gitto, E.; Marseglia, L.; Salpietro, C. Role of the diet as a link between oxidative stress and liver diseases. *World J. Gastroenterol.* **2015**, *21*, 384–395. [[CrossRef](#)]
11. Aceti, A.; Beghetti, I.; Martini, S.; Faldella, G.; Corvaglia, L. Oxidative stress and necrotizing enterocolitis: Pathogenetic mechanisms, opportunities for intervention, and role of human milk. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, *2018*, 7397659. [[CrossRef](#)]
12. Asztalos, E.V. Supporting mothers of very preterm infants and breast milk production: A review of the role of galactogogues. *Nutrients* **2018**, *10*, 600. [[CrossRef](#)]
13. Arslanoglu, S.; Corpeleijn, W.; Moro, G.; Braegger, C.; Campoy, C.; Colomb, V.; Decsi, T.; Domellöf, M.; Fewtrell, M.; Hojsak, I.; et al. Donor human milk for preterm infants: Current evidence and research directions. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2013**, *57*, 535–542. [[CrossRef](#)]
14. Goelz, R.; Hihn, E.; Hamprecht, K.; Dietz, K.; Jahn, G.; Poets, C.; Elmlinger, M. Effects of different CMV-heat-inactivation-methods on growth factors in human breast milk. *Pediatr. Res.* **2009**, *65*, 458–461. [[CrossRef](#)]
15. Daniels, B.; Schmidt, S.; King, T.; Israel-Ballard, K.; Mansen, K.A.; Coutoudis, A. The effect of simulated flash-heat pasteurization on immune components of human milk. *Nutrients* **2017**, *9*, 178. [[CrossRef](#)]
16. Untalan, P.B.; Keeney, S.E.; Palkowetz, K.H.; Rivera, A.; Goldman, A.S. Heat Susceptibility of Interleukin-10 and Other Cytokines in Donor Human Milk. *Breastfeed. Med.* **2009**, *4*, 137–144. [[CrossRef](#)]
17. Cristofalo, E.A.; Schanler, R.J.; Blanco, C.L.; Sullivan, S.; Trawoeger, R.; Kiechl-Kohlendorfer, U.; Dudell, G.; Rechtman, D.J.; Lee, M.L.; Lucas, A.; et al. Randomized Trial of Exclusive Human Milk versus Preterm Formula Diets in Extremely Premature Infants. *J. Pediatr.* **2013**, *163*, 1592–1595. [[CrossRef](#)]
18. Bertino, E.; Giuliani, F.; Baricco, M.; Di Nicola, P.; Peila, C.; Vassia, C.; Chiale, F.; Pirra, A.; Cresi, F.; Martano, C.; et al. Benefits of donor milk in the feeding of preterm infants. *Early Hum. Dev.* **2013**, *89*, S3–S6. [[CrossRef](#)]
19. Villamor-Martínez, E.; Pierro, M.; Cavallaro, G.; Mosca, F.; Kramer, B.W.; Villamor, E. Donor human milk protects against bronchopulmonary dysplasia: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients* **2018**, *10*, 238. [[CrossRef](#)]
20. Unger, S.; Gibbins, S.; Zupancic, J.; O'Connor, D.L. DoMINO: Donor milk for improved neurodevelopmental outcomes. *BMC Pediatr.* **2014**, *14*, 1–12. [[CrossRef](#)]
21. Zhou, J.; Shukla, V.V.; John, D.; Chen, C. Human Milk Feeding as a Protective Factor for Retinopathy of Prematurity: A Meta-analysis. *Pediatrics* **2015**, *136*, e1576–e1586. [[CrossRef](#)]
22. Larena Fernández, I.; Vara Callau, M.; Royo Pérez, D.; López Bernués, R.; Cortés Sierra, J.; Samper Villagrasa, M.P. Estudio de los efectos de la implantación de un banco de leche donada en los recién nacidos pretérmino en Aragón. *Enferm. Clin.* **2015**, *25*, 57–63. [[CrossRef](#)]
23. Izquierdo, M.; Martínez-Monseny, A.F.; Pociello, N.; Gonzalez, P.; Del Rio, R.; Iriondo, M.; Iglesias-Platas, I. Changes in Parenteral Nutrition during the First Week of Life Influence Early but Not Late Postnatal Growth in Very Low-Birth-Weight Infants. *Nutr. Clin. Pract.* **2016**, *31*, 666–672. [[CrossRef](#)]
24. Tudehope, D. Human milk and the nutritional needs of preterm infants. *J. Pediatr.* **2013**, *162*, S17–S25. [[CrossRef](#)]
25. Corbes de referència de pes, perímetre cranial i longitud en néixer de nounats d'embarassos únics, de bessons i de trigèmins a Catalunya.
26. García Muñoz, F.; García-Alix, A.; Figueras, J.; Saavedra, P. Nuevas curvas poblacionales de crecimiento en recién nacidos extremadamente prematuros españoles. *An. Pediatr.* **2013**, *6*, 1–8.
27. Bell, M.; Ternberg, J.; Feigin, L. Neonatal necrotizing enterocolitis: Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann. Surg.* **1978**, *187*, 1–7. [[CrossRef](#)]
28. Papile, L.; Burstein, J.; Burstein, R.; Koffler, H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: A study of infants with birth weight less than 1500 gm. *J. Pediatr.* **1978**, *92*, 529–534. [[CrossRef](#)]
29. Patz, A. The new international classification of retinopathy of prematurity. *Arch. Ophthalmol.* **1984**, *74*, 160–161. [[CrossRef](#)]
30. Quigley, M.; Embleton, N.D.; McGuire, W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2018**, *6*, CD002971. [[CrossRef](#)]

31. Castellano Yáñez, C.; Castillo Barrio, B.; Muñoz Labián, M.D.C.; Ortiz Movilla, R.; García Lara, N.R.; Royuela Vicente, A.; Marín Gabriel, M.A. Providing very preterm infants with donor human milk led to faster breastfeeding rates but worse biometric gains. *Acta Paediatr. Int. J. Paediatr.* **2018**, *12*, 1–2. [CrossRef]
32. Klingenberg, C.; Embleton, N.D.; Jacobs, S.E.; O’Connell, L.A.F.; Kuschel, C.A. Enteral feeding practices in very preterm infants: An international survey. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2012**, *97*, 1–3. [CrossRef]
33. Corpeleijn, W.E.; De Waard, M.; Christmann, V.; Van Goudoever, J.B.; Jansen-Van Der Weide, M.C.; Kooi, E.M.W.; Koper, J.F.; Kouwenhoven, S.M.P.; Lafeber, H.N.; Mank, E.; et al. Effect of donor milk on severe infections and mortality in very low-birth-weight infants: The early nutrition study randomized clinical trial. *JAMA Pediatr.* **2016**, *170*, 654–661. [CrossRef]
34. Assad, M.; Elliott, M.J.; Abraham, J.H. Decreased cost and improved feeding tolerance in VLBW infants fed an exclusive human milk diet. *J. Perinatol.* **2015**, *36*, 216–220. [CrossRef]
35. De Silva, A.; Jones, P.W.; Spencer, S.A. Does human milk reduce infection rates in preterm infants? A systematic review. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2004**, *89*, 509–514. [CrossRef]
36. Williams, T.; Nair, H.; Simpson, J.; Embleton, N. Use of Donor Human Milk and Maternal Breastfeeding Rates. *J. Hum. Lact.* **2016**, *32*, 212–220. [CrossRef]
37. Kantorowska, A.; Gould, J.B.; Cohen, R.S.; Lee, H.C.; Wei, J.C.; Lawrence, R.A. Impact of Donor Milk Availability on Breast Milk Use and Necrotizing Enterocolitis Rates. *Pediatrics* **2016**, *137*, e20153123. [CrossRef]
38. Underwood, M.A. Human milk for premature infants. *Pediatr. Clin. N. Am.* **2013**, *60*, 189–207. [CrossRef]
39. Van Goudoever, J.B.; Vlaardingerbroek, H.; Van den Akker, C. Amino Acids and Proteins. *World Rev. Nutr. Diet.* **2014**, *110*, 49–63.
40. Brownell, E.A.; Matson, A.P.; Smith, K.C.; Moore, J.E.; Esposito, P.A.; Lussier, M.M.; Lerer, T.J.; Hagadorn, J.I. Dose-response Relationship between Donor Human Milk, Mother’s Own Milk, Preterm Formula, and Neonatal Growth Outcomes. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2018**, *67*, 90–96. [CrossRef]
41. Sisk, P.M.; Lambeth, T.M.; Rojas, M.A.; Lightbourne, T.; Barahona, M.; Anthony, E.; Auringer, S.T. Necrotizing Enterocolitis and Growth in Preterm Infants Fed Predominantly Maternal Milk, Pasteurized Donor Milk, or Preterm Formula: A Retrospective Study. *Am. J. Perinatol.* **2017**, *34*, 676–683.
42. Verd, S.; Porta, R.; Botet, F.; Gutiérrez, A.; Ginovart, G.; Barbero, A.H.; Ciurana, A.; Plata, I.I. Hospital Outcomes of Extremely Low Birth Weight Infants After Introduction of Donor Milk to Supplement Mother’s Milk. *Breastfeed. Med.* **2015**, *10*, 150–155. [CrossRef]
43. Available online: <https://www.amerihhealthcaritaspa.com/pdf/provider/resources/clinical/policies/170401-donor-human-milk.pdf> (accessed on 25 April 2019).
44. Silano, M.; Milani, G.P.; Fattore, G.; Agostoni, C. Donor human milk and risk of surgical necrotizing enterocolitis: A meta-analysis. *Clin. Nutr.* **2019**, *38*, 1061–1066. [CrossRef]
45. Binet, M.-E.; Bujold, E.; Lefebvre, F.; Tremblay, Y.; Piedboeuf, B. Role of gender in morbidity and mortality of extremely premature neonates. *Am. J. Perinatol.* **2012**, *29*, 159–166. [CrossRef]
46. Alur, P. Sex Differences in Nutrition, Growth, and Metabolism in Preterm Infants. *Front. Pediatr.* **2019**, *7*, 1–9. [CrossRef]
47. Sáenz de Pipaón, M.; Closa, R.; Gormaz, M.; Lines, M.; Nabona, E.; Rodríguez-Martínez, G.; Uberos, J.; Zozaya, C.; Couce, M.L. Nutritional practices in very low birth weight infants: A national survey. *Nutr. Hosp.* **2017**, *34*, 1067–1072.
48. Barone, G.; Maggio, L.; Saracino, A.; Perri, A.; Romagnoli, C.; Zecca, E. How to feed small for gestational age newborn. *Ital. J. Pediatr.* **2013**, *39*, 1–5. [CrossRef]

