

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 544 853**

51 Int. Cl.:

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2001 E 01928487 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2015 EP 1272058**

54 Título: **Fórmulas infantiles que contienen ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y usos de las mismas**

30 Prioridad:

13.04.2000 US 196970 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.09.2015

73 Titular/es:

**ABBOTT LABORATORIES (100.0%)
100 Abbott Park Road
Abbott Park, IL 60064-3500, US**

72 Inventor/es:

**O'CONNER, DEBORAH L.;
AUESTAD, NANCY;
MERRITT, RUSSELL J.;
FITZGERALD-GUSTAFSON, KATHLEEN;
HALTER, ROBIN;
JANOWSKY, JERI;
NEURINGER, MARTHA y
SINGER, LYNN T.**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 544 853 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Fórmulas infantiles que contienen ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y usos de las mismas

- 5 La presente invención se refiere al uso de ADH y AA para la fabricación de una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en cantidades que, si dicha fórmula enriquecida con nutrientes fuera la única fuente de consumo calórico, suministraría un consumo diario promedio por kg de peso corporal de 2 a 65 mg de ADH y 2 a 65 mg de AA, en un régimen de alimentación que continúa hasta que dicho bebé prematuro alcanza una edad corregida de seis meses, para potenciar el desarrollo neurológico de un niño prematuro.
- 10 La presente invención se refiere al uso de ADH y AA para la fabricación de una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en concentraciones basadas en porcentaje p/p de ácidos grasos totales de 0,15 a 1,0 % de ADH y 0,2 a 1,0 % de AA, en un régimen de alimentación que continúa hasta que dicho niño prematuro alcanza una edad corregida de seis meses y que constituye del 100 % al 50 % del consumo calórico del niño prematuro, para potenciar el desarrollo neurológico de un niño prematuro.

15

Antecedentes

- Si las fórmulas diseñadas para el niño prematuro deberían complementarse o no con LCP, incluyendo ácido araquidónico ("AA", 20:4n-6) y/o ácido docosahexanoico ("ADH", 22:6n-3) se ha convertido en uno de los asuntos más controvertidos en la nutrición infantil actual. Varias líneas de lógica sugieren que los niños prematuros a los que se alimenta con fórmula infantil sin AA y ADH pueden tener un riesgo aumentado de niveles tisulares y en sangre subóptimos de estos ácidos grasos en comparación con el niño a término. En primer lugar, la acumulación de ADH en el cerebro y la retina es más rápida durante el último trimestre intrauterino, entre 25 y 40 semanas de edad postmenstrual (Clandinin, *et al.* 1980; Martinez, 1991) y los primeros meses después del nacimiento (Martinez, 1991); por lo tanto, el requisito fisiológico de ADH es mayor durante el periodo prenatal. En segundo lugar, el aporte de AA y ADH al niño prematuro puede estar limitado debido a la terminación temprana de la transferencia materno fetal de esos ácidos grasos. Clandinin, *et al.* (1980) indicó que aproximadamente el 80 % de la acumulación de AA y ADH intrauterina sucede durante el último trimestre intrauterino. En tercer lugar, el aporte puede limitarse también debido a síntesis *de novo* inmadura de AA y ADH a partir de sus ácidos grasos precursores esenciales dietéticos, ácidos linoleico (18:2n-6) y α -linolénico (18:3n-3), respectivamente. Aunque se ha mostrado que los niños prematuros son capaces de sintetizar *de novo* AA y ADH (Carnielli, *et al.* 1996; Salem, *et al.* 1996; Sauerwald, *et al.* 1996), no está claro si estas rutas enzimáticas son suficientes en el niño prematuro para cumplir los requisitos de AA y ADH (Carlson 1997). De hecho, se ha interpretado en ocasiones que los resultados de ensayos controlados aleatorios con niños prematuros alimentados con fórmulas que contienen ADH pero no AA sugieren maduración más rápida de la fisiología retiniana (Birch, *et al.* 1993), función visual (Birch, *et al.* 1993; Carlson *et al.* 1993a, 1996a) y/o neurodesarrollo. Sin embargo, existen informes también de crecimiento alterado o más lento en niños prematuros a los que se alimenta con fórmula que contiene ADH pero no AA. Por ejemplo, Carlson, *et al.* (1992) descubrió crecimiento más lento de 4 a 12 meses EC, así como desarrollo motor deprimido a los 12 meses EC (Carlson 1993c), en niños prematuros a los que se alimentó con una fórmula prematura que contiene ADH hasta el alta hospitalaria seguido de una fórmula a término complementada con ADH hasta los 9 meses EC. Un segundo estudio de Carlson, *et al.* (1996b) también mostró crecimiento más lento. En este estudio, se alimentó a niños prematuros con una fórmula prematura que contenía ADH hasta 2 meses EC, y se descubrieron déficits de crecimiento a los 6, 9 y 12 meses EC. Un tercer estudio (Ryan, *et al.* 1998) mostró crecimiento más lento en niños prematuros a los que se alimentó con una fórmula prematura que contenía ADH durante dos meses después del alta hospitalaria y después una fórmula a término que contenía ADH durante cuatro meses adicionales. Se observó perturbación de crecimiento en niños de sexo masculino a aproximadamente 3 y 5 meses de EC.

- Aunque la nutrición temprana y el crecimiento puede ser un predictor significativo del desarrollo posterior (Hack *et al.* 1991; Morley y Lucas 1994), existe una falta de consenso de que las mejoras en el desarrollo visual y neural justifiquen la alimentación de ADH a costa de un crecimiento más lento. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de una solución que proporcione desarrollo mejorado (visual, neurológico y otros) sin la velocidad de crecimiento ralentizada conjunta asociada con los protocolos de alimentación de la técnica anterior.

- Carlson, *et al.* (1993b) planteó la hipótesis de que la inclusión de AA en fórmulas que contienen ADH corregiría las observaciones de crecimiento negativo. Hasta donde alcanza el conocimiento de los solicitantes, ningún estudio previo ha ensayado esta hipótesis. Para hacerlo eficazmente, un estudio debe examinar el crecimiento bastante más allá de los 2 meses de edad corregida (EC) ya que es durante este periodo de tiempo posterior (por ejemplo, a los 3, 5, 6, 9 y 12 meses EC) que se ha observado crecimiento negativo en estudios previos (Carlson, *et al.* 1992, 1996b; Ryan, *et al.* 1999). Schade, *et al.* en el documento WO 98/44917 (publicado en octubre de 1998, que reivindica el beneficio de prioridad con respecto a la solicitud de Estados Unidos N° 60/042.366 fechada el 27 de marzo de 1997) describe un estudio en el que se alimentó con ADH y AA a niños prematuros en una fórmula fortificada durante 28 días o hasta el alta hospitalaria, lo que fuera más largo, pero los niños se cambiaron después a una fórmula infantil a término rutinaria sin AA y ADH y se siguió solamente hasta los 4 meses EC. Este estudio no presenta ninguna diferencia en la agudeza visual y ningún problema de crecimiento adverso durante o hasta los 4 meses EC después de este corto intervalo de alimentación. Vanderhoof, *et al.* (1999; 2000) presenta un estudio donde se alimentó a niños prematuros con una fórmula fortificada complementada con ADH y AA hasta EC a término, después se

65

cambiaron a una fórmula convencional complementada con ADH y AA hasta los 2 meses EC. El artículo de 1999 presenta datos de las observaciones de 2 meses EC, y el artículo de 2000 (agosto) presentó ciertos datos hasta 12 meses EC. No se descubrió que el crecimiento fuera diferente del control, pero los resultados indicados no incluyeron ningún desarrollo potenciado.

5 Resulta importante que ningún estudio hasta la fecha ha examinado el impacto de la alimentación con fórmula que contiene AA y ADH en niños prematuros durante periodos prolongados; por ejemplo hasta 6, 9 o 12 meses EC, la edad recomendada en ausencia de LH para el cese de la alimentación con fórmula en niños a término (American Academy of Pediatrics, 1998). De forma similar, los solicitantes son conscientes de que ningún estudio ha
10 examinado el impacto en la maduración de la alimentación con AA y ADH como parte de un régimen de alimentación enriquecido con nutrientes diseñado específicamente para el niño prematuro más allá de 6 meses EC. Lucas, *et al.* (1992) demostró mayor crecimiento lineal y aumento de peso entre niños prematuros a los que se alimentó con una fórmula enriquecida con nutrientes hasta 9 meses EC en comparación con niños prematuros a los que se alimentó con fórmula diseñada para el niño a término, pero ninguna fórmula contenía ADH o AA.

15 El documento WO 98/44917 A desvela un método para potenciar el crecimiento de niños prematuros que implica la administración de ciertos ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga; preferentemente, se administra a los niños una fórmula infantil que contiene una combinación de ácido docohexanoico y ácido araquidónico.

20 Además, ninguno de los estudios hasta la fecha ha intentado controlar los posibles factores de confusión del ambiente doméstico y la inteligencia materna. Ambas variables pueden influir significativamente en el desarrollo de los niños.

Referencias

25 Las siguientes referencias son de interés. Se encuentra una breve descripción de cada una en el análisis de antecedentes anterior o en otra parte en la solicitud.

- 30 • American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Pediatric Nutrition Handbook ed 4. Elk Grove Village, ILL: American Academy of Pediatrics, 1998.
- AOAC. Official Methods of Analyses, ed 14. Arlington, VA: AOAC, 1984, secciones 28.082-28.085.
- Bayley N. Bayley Scales of Infant Development. San Antonio: Psychological Corp. 1993.
- Birch E, Birch D, Hoffman D, Hale L, Everett M, Uauy R. Breast-feeding and optimal visual development. J
35 *Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1993; 30: 33-38.
- Caldwell B, Bradley R. Home Observation for the Measurement of the Environment. Little Rock: University of Arkansas, 1984.
- Carlson SE, Werkman SH, Tolley EA. The effect of long-chain n-3 fatty acid supplement on visual acuity and growth of preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *Am J Clin Nutr*. 1996a; 63: 687-697.
- Carlson SE, Werkman SH. A randomized trial of visual attention of preterm infants fed docosahexaenoic acid
40 until 2 months. *Lipids*. 1996b; 31: 85-90.
- Carlson SE, Werkman SH, Rhodes PG, Tolley EA. Visual-acuity development in healthy, preterm infants: effect of marine-oil supplementation. *Am J Clin Nutr*. 1993a; 58: 35-42.
- Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM. Arachidonic acid status correlates with first year growth of preterm infants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993b;90: 1073-1077.
- 45 • Carlson SE, Lipid Requirements of VLBW infants for Optimal Growth and Development, in *Lipids, Learning and the Brain; Fats in Infant Formula*, Report of the 103rd Ross Conference on Pediatric Research, Columbus, OH. Ross Laboratories. 1993c.
- Carlson SE, Cooke RJ, Werkman SH, Tolley EA. First year growth of preterm infants fed standard compared to marine oil n-3 supplemented formula. *Lipids*. 1992; 27: 901-907.
- 50 • Carnielli VP, Wattimena DJ, Luijendijk IH, Boerlage A, Degenhart HJ, Sauer PJ. The very low birth weight premature infant is capable of synthesizing arachidonic and docosahexaenoic acids from linoleic and linolenic acids. *Pediatr Res*. 1996; 40: 169-174.
- Clandinin MR, ChappellJE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. *Early Human Dev*. 1980; 4: 121-9
- 55 • Clandinin MR, Chappell JE, Patente de Estados Unidos 4.670.285
- Colombo J, Mitchell DW, Horowitz FD. Infant visual attention in the paired-comparison paradigm: Test-retest and attention-performance relations. *Child Dev*. 1988; 59: 1198-1210.
- Connor WE, Adamkin D, Auestad N, Connor S, Groh-Wargo S, Hall R, Jacobs J, Lucas A, Mena P, O'Connor D, Nesin M, Singer L, Szabo J. Evaluation of LCP-Containing Formulas for Preterm Infants, *The FASEB Journal* 14: Suplemento 2000. [resumen; presentado el 15-18 de abril].
- 60 • Fagan JF, Singer LT. Infant recognition memory as a measure of intelligence. In, Lipsitt LP (ed): *Advances in Infancy Research* (Vol. 2). Norwood, HJ: Ablex, 1983, pp 31-72.
- Faldella G, Bovoni M, Alessandroni R, *et al.* Visual evoked potentials and dietary long chain polyunsaturated fatty acids in preterm infants. *Arch Dis Child*. 1996; 75: F108-F112.
- 65 • Fenson L, Dale PS, Reznick JS, *et al.* MacArthur Communicative Development Inventories: User's Guide and Technical Manual. San Diego: Singular Publishing Group, 1993.

- Hack M, Breslau N, Weissman B, Aram D, Klein N, Borawski E. Effect of very low birth weight and subnormal head size on cognitive abilities at school age. *N Engl J Med.* 1991; 325: 231-237.
- Hakkinen VK, Ignatius J, Koskinen M, Koivikko MJ, Ikonen RS, Janas M. Visual evoked potential in high-risk infants. *Neuropediatrics.* 1987; 18: 70-74.
- 5 • Hartmann EE, Zemon V, Buckley SW, Fitzgerald KM, Gordon J, Montalto MB. Visual evoked potential (VEP) estimates of spatial acuity in 4-month old infants: A new swept-parameter technique. *Vision Science and Its Applications: Technical Digest Series, vol 1, 1998.*
- Iinuma K, Lombroso CT, Matsumiya Y. Prognostic value of visual evoked potentials (VEP) in infants with visual inattentiveness. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1997; 104: 165-170.
- 10 • Jacobson SW, Jacobson JL, Sokol RJ, Martier SS, Ager JW. Prenatal alcohol exposure and infant information processing ability. *Child Dev.* 1993; 64: 1706-1721.
- Jenson RG. Lipids in Human Milk. *Lipids, 1999 v34(12): 1243-1271.*
- Kocher L. *Guide to Growth Assessment of Infants in Clinical Studies.* Ross Products Division, 1991.
- 15 • Kyle D, *et al.*, Patentes de Estados Unidos 5.374.657, 5.550.156, 5.658.767, 5.397.591, 5.407.957, 5.492.938 y 5.711.983.
- Lucas A, Bishop NJ, King FJ, Cole TJ. Randomised trial of nutrition for preterm infants after discharge. *Arch Dis Child.* 1992; 67: 324-327.
- Martinez M. Developmental profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain of normal infants and patients with peroxisomal diseases: Severe deficiency of docosahexaenoic acid in Sellweger's and pseudo-Zellweger's syndromes. *World Rev Nutr Diet.* 1991; 66: 87-102
- 20 • Mayer DL, Dobson V: Grating acuity cards: Validity and reliability in studies of human visual development. In, Dobbing J (ed). *Developing Brain and Behavior: The Role of Lipids in Infant Formula.* San Diego: Academic Press, Ltd, 1997, pp 253-292.
- Morley R, Lucas A. Influence of early diet on outcome in preterm infants. *Acta Paediatr Suppl.* 1994; 405-123-126.
- 25 • Neuringer M, Adamkin D, Auestad N, Castillo M, Connor W, Fitzgerald K, Hall R, Hartmann EE, Jacobs J, Janowsky J, Lucas A, Mena P, O'Connor D, Nesin M, Singer L, Szabo J, Zemon V. Efficacy of Dietary LCPs for Preterm Infants, *The FASEB Journal 14: Suplemento 2000.* [resumen; presentado el 15-18 de abril].
- O'Connor, *et al.* Growth, Tolerance and Morbidity of Preterm Infants Fed Exclusively Human Milk, Exclusively Preterm Infant Formula or a Combination of Human Milk and a Preterm Infant Formula Until Term Corrected Age, *Pediatr. Res.* 45: 287A 1999 [resumen presentado en mayo de 1999].
- 30 • Ryan AS, Montalto MB, Groh-Wargo S, *et al.* Effect of ADH-containing formula on growth of preterm infants to 59 weeks postmenstrual age. *Am J Hum Biol.* 1999; 11: 457-467.
- Salem N Jr, Wegner B, Mena P, Uauy R. Arachidonic and docosahexaenoic acids are biosynthesized from their 18-carbon precursors in human infants. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93: 49-54
- 35 • SAS Institute Inc., *SAS/STAT® User's Guide, versión 6, ed 4.* Cary, NC: SAS Institute, Inc., 1989.
- Sauerwald TU, Hachey DL, Jensen CL, *et al.* Effect of dietary alpha-linoleic acid intake on incorporation of docosahexaenoic and arachidonic acids into plasma phospholipids of term infants. *Lipids.* 1996; 31: S131-S135.
- Schade DA, *et al.*, *Publicación de Patente Internacional WO 98/44917 (1998).*
- 40 • Scherjon S, Briet J, Oosting H, Kok J. The discrepancy between maturation of visual-evoked potentials and cognitive outcome at five years in very preterm infants with and without hemodynamic signs of fetal brain-sparing. *Pediatrics.* 2000; 105: 285-391.
- Scott DT, Janowsky JS, Carroll RE, *et al.* Formula supplementation with long-chain polyunsaturated fatty acids: Are there developmental benefits? *Pediatrics.* 1998; 102 (5): p e59.
- 45 • Shinmen, *et al.* *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 31: 11-16 (1989).
- Teller DY, McDonald MA, Preston K, need rest *et al.* Assessment of visual acuity of infants and children: The acuity card procedure. *Dev Med and Child Neurol.* 1986; 28: 779-789.
- Uauy R, Hoffman DR, Birch EE, Birch DG, Jameson DM, Tyson J: Safety and efficacy of omega-3 fatty acids in the nutrition of very low birth weight infants: Soy oil and marine oil supplementation of formula. *J Pediatr.* 1994; 124: 612-620.
- 50 • Vanderhoof J, *et al.* Evaluation of a long-chain polyunsaturated fatty acid supplemented formula on growth, tolerance and plasma lipids in preterm infants up to 48 weeks postconceptual age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999; 29: 318-326.
- Vanderhoof J, *et al.* A multicenter long-term safety and efficacy trial of preterm formula supplemented with long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000; 30: 121-127.
- 55 • van Hof-van Duin J, Cioni G, Bertuccelli B, Fazzi B, Romano C, Boldrini A. Visual outcome at 5 years of newborn infants at risk of cerebral visual impairment. *Dev Med Child Neurol.* 1998; 40: 302-309.
- Vohr B, Garcia Coll C, Flanagan P, Oh W. Effects of intraventricular hemorrhage and socioeconomic status on perceptual, cognitive, and neurologic status of low birth weight infants at 5 years of age. *J Pediatr.* 1992; 21: 280-285.
- 60 • Wechsler D. *Wechsler Adult Intelligence Scale - Revised.* San Antonio: The Psychological Corporation, 1981.
- Weistheimer G. Scaling of visual acuity measurements. *Arch Ophthalmol.* 1987; 97: 327-330.
- Woltzil HA, van Beusekom CM, Schaafsma A, Muskiet FAJ, Okken A: Long-chain polyunsaturated fatty acid status and early growth of low birth weight infants. *Eur J Pediatr.* 1998; 17: 146-152.
- Yamada, *et al.* *J. Dispersion Science and Technology, 10(4&5), pp 561-579 (1989).*
- 65 • Zemon V, Hartmann EE, Gordon J, Prunte-Glowazki A. An electrophysiological technique for the assessment of the development of spatial vision. *Optom Vis Sci.* 1997; 74: 708-716.

Por lo tanto, los inventores realizaron un ensayo de control aleatorio exhaustivo que tenía potencia adecuada para evaluar la idoneidad y posibles beneficios de complementar fórmula enriquecidas con nutrientes diseñadas para niños prematuros con aceites (de pescado/fúngico o TGD de huevo/pescado, como se define posteriormente) que contienen los LCP AA y ADH. Estas fórmulas que contienen LCP, enriquecida con nutrientes, se usaron para alimentar durante un periodo prolongado de más de 6 meses de edad corregida; de hecho hasta 12 meses de edad corregida.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere al uso de ADH y AA para la fabricación de una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en cantidades que, si dicha fórmula enriquecida con nutrientes fuera la única fuente de consumo calórico, suministraría un consumo diario promedio por kg de peso corporal de 2 a 65 mg de ADH y de 2 a 65 mg de AA, en un régimen de alimentación que continúa hasta que dicho niño prematuro alcanza una edad corregida de seis meses, para potenciar el desarrollo neurológico de un niño prematuro.

La presente invención se refiere al uso de ADH y AA para la fabricación de una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en concentraciones basadas en porcentaje p/p de ácidos grasos totales de 0,15 a 1,0 % de ADH y 0,2 a 1,0 % de AA, en un régimen de alimentación que continúa hasta que dicho niño prematuro alcanza una edad corregida de seis meses y que constituye del 100 % al 50 % del consumo calórico del niño prematuro, para potenciar el desarrollo neurológico de un niño prematuro.

Descripción de las figuras de los dibujos

Las Figuras 1A a 1C muestran el peso (Figura 1A), longitud (Figura 1B) y circunferencia craneal (Figura 1C) de niños prematuros alimentados con leche humana y/o fórmula enriquecida con nutrientes con o sin AA y ADH desde el Día del Estudio 1 (mediana, 5 días de edad) hasta 12 meses de EC. Los valores se presentan como media \pm DT para la población de intención de tratar (gráficas principales) y para seguidores del protocolo de alimentación de estudio estricto (gráficas insertas). Las líneas discontinuas con símbolos triangulares indican datos para niños que se alimentaron exclusivamente con leche humana hasta EC a término. Grupos de fórmula: 1) control [Círculos], 2) AA+ADH (pez/fúngico) [Cuadrados] y 3) AA+ADH (TGD de huevo/pescado) [Triángulos con líneas continuas].

La Figura 2 muestra el desarrollo visual medido por tarjetas de Agudeza de Teller (eje derecho) a los 2, 4 y 6 meses EC (\pm 7 días) de niños prematuros alimentados con leche humana y/o fórmula enriquecida con nutrientes con o sin AA y ADH hasta 12 meses EC. Los datos para población de intención de tratar se muestran en el eje izquierdo como la media (ciclo/grado, ci/gra) \pm DT (octavos). Las líneas discontinuas con símbolos triangulares indican datos para niños que se alimentaron exclusivamente con leche humana hasta EC a término. Grupos de fórmula: 1) control [Círculos], 2) AA+ADH (pescado/fúngico) [Cuadrados] y 3) AA+ADH (TGD de huevo/pescado) [Triángulos con líneas continuas].

La Figura 3 muestra la agudeza visual de Potencial Evocado Visual (VEP) (eje derecho) a los 4 y 6-meses EC (\pm 7 días) de niños prematuros en los sitios de investigación de Kansas City, Nueva York y Portland a los que se alimentó con leche humana y/o fórmula enriquecida con nutrientes con o sin AA y ADH hasta 12 meses EC. Los datos para población de intención de tratar se muestran en el eje izquierdo como media (ciclos/grado, ci/gra) \pm DT (octavos). Las líneas discontinuas con símbolos triangulares indican datos para niños que se alimentaron exclusivamente con leche humana hasta EC a término. Grupos de fórmula: 1) control [Círculos], 2) AA+ADH (pez/fúngico) [Cuadrados], 3) AA+ADH (TGD de huevo/pescado) [Triángulos con líneas continuas]. A los 6 meses EC, la media de agudeza VEP de niños alimentados con la fórmula AA+ADH (pescado/fúngico) (medias de LS \pm ET, 11,4 \pm 0,1) o AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (12,5 \pm 1) fue mayor que la de niños a los que se alimentó con la fórmula de control (8,4 \pm 0,1).

Descripción detallada

Hay varios aspectos de la presente invención, cada uno de los cuales se describe en una subsección posterior. Cualquier aspecto puede aparecer en combinación con cualquier otro aspecto. Los términos usados en este sumario se refieren en otra parte en la presente solicitud.

Régimen de alimentación extendido; desarrollo del crecimiento

La invención se refiere a una fórmula enriquecida con nutrientes para su uso al proporcionar nutrición a un niño prematuro, alimentando al niño con una fórmula enriquecida con nutrientes durante un periodo prolongado, es decir hasta al menos 6 meses EC y preferentemente hasta 9 o incluso 12 meses EC. Preferentemente, la fórmula enriquecida con nutrientes se complementa con LCP, específicamente AA y ADH a niveles analizados en el presente documento. Dichos regímenes de alimentación pueden ser la fuente exclusiva de consumo calórico para el niño, o puede complementarse con leche humana inicialmente, y/o con alimentos sólidos en estadios posteriores, por ejemplo después de aproximadamente 2 a 4 meses EC. En una variación preferida, la fórmula enriquecida con nutrientes para su uso al proporcionar nutrición a un niño prematuro comprende alimentar al niño de acuerdo con un

régimen por estadios, usando una fórmula enriquecida con nutrientes de Tipo I que contiene ADH y AA hasta que el niño recibe el alta hospitalaria o aproximadamente la edad corregida a término ("EC"); seguido de una fórmula enriquecida con nutrientes de Tipo II que contiene ADH y AA hasta que el niño alcanza al menos 6 y preferentemente 9 o 12 meses EC. Los regímenes de alimentación tales como los descritos en el párrafo anterior pueden denominarse regímenes de alimentación "de alcance", que se refieren al desarrollo neurológico potenciado analizado posteriormente. Una ventaja importante de dichos regímenes de alimentación sobre la técnica anterior es que no muestran la inhibición del crecimiento que se ha observado previamente cuando se alimentó con ADH sin AA.

10 **Desarrollo neurológico**

La invención se refiere a un desarrollo neurológico potenciado o mejorado de niños prematuros alimentando a dicho niño con una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA hasta que el niño alcanza al menos 6 meses EC. El desarrollo neurológico potenciado se evalúa en el presente documento como desarrollo visual, desarrollo motor y/o desarrollo del lenguaje, cada uno analizado posteriormente, en comparación con niños que no reciben fórmula enriquecida con nutrientes comparable que contiene ADH y AA hasta que el niño alcanza al menos 6 meses EC. La alimentación hasta que el niño alcanza el menos 6 meses EC puede consistir exclusivamente en fórmula, fórmula más leche humana, o, después de aproximadamente 2 a 4 meses EC, puede incluir alimentos sólidos complementarios.

20 Desarrollo visual

La presente invención se refiere a una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA para su uso en la mejora del desarrollo visual de un niño prematuro alimentando a dicho niño con una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA hasta que el niño alcanza al menos 6 meses EC. El desarrollo visual puede medirse por cualquiera de varias técnicas, incluyendo tarjetas de Agudeza de Teller, Agudeza de Potencial Evocado Visual ("VEP") y Sensibilidad de Contraste de VEP, como se describe en el presente documento. Aunque algunos investigadores han alimentado con ADH en la técnica anterior y han descubierto desarrollo visual potenciado, este beneficio se ha asociado con tasas de crecimiento más lentas en niños prematuros y ha provocado preocupación entre algunos investigadores acerca de la justificación para añadir ADH a fórmulas infantiles. De hecho, aunque algunos países permiten la adición de LCP a la fórmula, aún están prohibidos por las agencias reguladoras en los Estados Unidos y en Canadá, supuestamente debido a preocupaciones de seguridad. La presente invención supera este problema demostrando desarrollo visual mejorado sin comprometer el crecimiento.

Preferentemente de acuerdo con la invención, ADH y AA están presentes en cantidades y relaciones analizadas en el presente documento y se usan para alimentar en fórmulas enriquecidas con nutrientes, para un régimen extendido.

40 Desarrollo motor

La invención se refiere a una fórmula enriquecida con nutrientes para su uso en la potenciación o aceleración del neurodesarrollo motor de un niño prematuro, alimentando a dicho niño con una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA hasta que el niño alcanza al menos seis meses EC, preferentemente hasta nueve o incluso 12 meses EC. Es más evidente en niños prematuros pequeños que tienen pesos al nacer de menos de aproximadamente 1400 g, preferentemente menos de aproximadamente 1250 g. Puede ser preferible alimentar a niños prematuros de acuerdo con un régimen extendido en estadios como se ha descrito anteriormente. La presente invención supera el problema de la técnica anterior demostrando el desarrollo motor mejorado sin comprometer el crecimiento.

50 Desarrollo del lenguaje

La invención se refiere a una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA para su uso en la potenciación o aceleración del desarrollo del lenguaje de un niño prematuro, alimentando a un niño con una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA hasta que el niño alcanza al menos seis meses EC, preferentemente hasta nueve o incluso 12 meses EC. Puede ser preferible alimentar a los niños prematuros de acuerdo con un régimen extendido en estadios como se ha descrito anteriormente. La presente invención supera el problema de la técnica anterior demostrando el desarrollo del lenguaje mejorado sin comprometer el crecimiento.

60 **Equilibrio de LCPI/precursor de LCP**

Se desvela en el presente documento una composición nutricional, tal como una fórmula infantil, que contiene ADH y AA, y sus ácidos grasos esenciales precursores respectivos ácido alfa linolénico (ALA) y ácido linoleico (LA), en cantidades que producen los efectos beneficiosos vistos a partir de las presentes fórmulas.

Se ha descubierto sorprendentemente que pueden usarse niveles muchos menores de ADH y AA en fórmulas infantiles para obtener los efectos beneficiosos sin comprometer el crecimiento antropométrico. Las ventajas de los

niveles menores son al menos dobles: en primer lugar, a la vista de las preocupaciones sobre el crecimiento y seguridad con ADH y AA observadas en la bibliografía, la prudencia aconseja que se añada solamente tanta cantidad de estos LCP como sea necesario para conseguir las ventajas deseadas. En segundo lugar, como estos aceites de LCP son relativamente caros y aumentan significativamente el coste de las fórmulas infantiles, debería añadirse de nuevo solamente los que sean necesarios. Se analizan en el presente documento variaciones específicas de esta composición y su uso para proporcionar nutrición a niños prematuros.

Terminología

A lo largo de la presente solicitud, se puede usar la siguiente terminología y abreviaturas.

Los ácidos grasos son un componente importante de la nutrición. Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos y se clasifican basándose en las características de longitud y saturación de la cadena de carbono. Los ácidos grasos de cadena corta tienen de 2 a aproximadamente 6 carbonos y están típicamente saturados. Los ácidos grasos de cadena media tienen de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 carbonos y también están típicamente saturados. Los ácidos grasos de cadena larga tienen de 16 a 24 o más carbonos y también pueden ser saturados o insaturados. En ácidos grasos más largos puede haber uno o más puntos de insaturación, dando lugar a los términos "monoinsaturado" y "poliinsaturado", respectivamente. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCP o LC-PUFA) que tienen 20 o más carbonos son particularmente interesantes en la presente invención.

Los LC-PUFA se clasifican de acuerdo con el número y posición de dobles enlaces en los ácidos grasos de acuerdo con una nomenclatura bien entendida por el bioquímico. Hay dos series o familias de LC-PUFA, dependiendo de la posición del doble enlace más cercano al extremo metilo del ácido graso: la serie n-3 contiene un doble enlace en el tercer carbono, mientras que la serie n-6 no tiene ningún doble enlace hasta el sexto carbono. Por lo tanto, el ácido araquidónico ("AA" o "ARA") tiene una longitud de cadena de 20 carbonos y 4 dobles enlaces que comienzan en el sexto carbono. Como resultado, se denomina "20:4 n-6". De forma similar, el ácido docosahexanoico ("ADH") tiene una longitud de cadena de 22 carbonos con 6 dobles enlaces que comienzan con el tercer carbono desde el extremo metilo y se designan por lo tanto "22:6 n-3". AA y ADH son particularmente importantes en la presente invención. Otro LCP importante es el ácido eicosapentaenoico ("AEP") que se designa (20:5 n-3). Las rutas biosintéticas para AA (serie n-6) y ADH (serie n-3) de sus precursores C18 respectivos son distintas, pero comparten etapas de elongación y desaturación y se entienden bien. Por lo tanto, otros LCP importantes son los ácidos grasos C18 que son precursores en estas rutas biosintéticas, por ejemplo, ácidos linoleico (18:2 n-6) y γ -linolénico (18:3 n-6) en la ruta n-6, y α -linolénico (18:3 n-3) y estearidónico (18:4 n-3) en la ruta n-3.

Se encuentran con frecuencia ácidos grasos en la naturaleza como radicales de acilo esterificados a alcoholes. Un glicérido es uno o de dichos ésteres de uno o más ácidos grasos con glicerol (1,2,3-propanotriol). Si se esterifica solamente una posición de la molécula de cadena principal de glicerol con un ácido graso, se produce un "monoglicérido"; si se esterifican dos posiciones, se produce un "diglicérido"; y si se esterifican las tres posiciones del glicerol con ácido graso se produce un "triglicérido" o "triacilglicerol". Un glicérido se denomina "sencillo" si todas las posiciones esterificadas contienen el mismo ácido graso; o "mixto" si están implicados diferentes ácidos grasos. Un fosfolípido es un tipo especial de diglicérido, donde la tercera posición en la cadena principal de glicerol está unida con un nitrógeno que contiene un compuesto tal como colina, serina, etanolamina, inositol, etc., mediante un éster de fosfato. Los triglicéridos y fosfolípidos se clasifican con frecuencia como de cadena larga o de cadena media, de acuerdo con los ácidos grasos unidos a los mismos. En leche humana, aproximadamente el 98 % de los ácidos grasos son en triglicéridos. Una "fuente" de ácidos grasos puede incluir cualquiera de estas formas de glicéridos a partir de orígenes naturales u otros.

Lípidos es un término general que describe componentes grasos u oleosos. En la nutrición, los lípidos proporcionan energía y ácidos grasos esenciales y potencian la absorción de vitaminas solubles en grasas. El tipo de lípido consumido afecta a muchos parámetros fisiológicos tales como perfil de lípidos en plasma, composición de lípidos de membrana celular y síntesis de mediadores de la respuesta inmunitaria tales como prostaglandinas y tromboxanos.

Las fuentes de ácidos grasos de cadenas más cortas útiles en la presente invención incluyen aceites derivados de plantas, tales como borraja, semilla de grosella negra, maíz, coco, colza, soja, cártamo, cártamo alto oleico, girasol, girasol alto oleico, oliva, onagra, semilla de algodón, salvado de arroz, semilla de uva, semilla de lino, ajo, cacahuets, almendras, nueces, germen de trigo y sésamo. Dichas fuentes vegetales producen de forma natural ácidos grasos solamente hasta aproximadamente 18 carbonos. Las fuentes de LCP más largos incluyen productos ovulácteos como huevos y grasa láctea, aceites marinos tales como bacalao, lacha, sardina, atún y muchos otros pescados; ciertas grasas animales, manteca, sebo y aceites microbianos tales como aceites fúngicos y algales como se describe en detalle en las Patentes de Estados Unidos 5.374.657, 5.550.156 y 5.658.767. Notablemente, los aceites de pescado son una buena fuente de ADH y están disponibles en el mercado en variedades de "alta AEP" y "baja AEP", teniendo esta última una alta relación ADH:AEP, preferentemente al menos 3:1. Aceites de algas tales como los de dinoflagelados de la clase Dinophyceae, notablemente *Cryptocodinium cohnii* también son fuentes de ADH (incluyendo DHASCO™), como se enseña en las Patentes de Estados Unidos 5.397.591, 5.407.957, 5.492.938 y 5.711.983. El género *Mortierella*, especialmente *M. alpina*, y *Pythium insidiosum* son buenas fuentes de AA,

incluyendo ARASCO™ como se enseña en la Patente de Estados Unidos 5.658.767 y como se enseña en Yamada, *et al.* J. Dispersion Science and Technology, 10(4&5), pp 561-579 (1989), y Shinmen, *et al.* Appl. Microbiol. Biotechnol. 31: 11-16 (1989).

5 Por supuesto, pueden desarrollarse nuevas fuentes de LCP mediante la manipulación genética de otros organismos, particularmente vegetales y/o plantas que portan aceite. Se han identificado genes de desaturasa y/o elongasa a partir de muchos organismos y estos pueden introducirse por ingeniería genética en plantas u otras células hospedadoras para provocar que produzcan grandes cantidades de aceites que contienen LGP a bajo coste. El uso de dichos aceites recombinantes también se contemplan en la presente invención.

10 La fórmula infantil se refiere a formulaciones nutricionales que cumplen las normas y criterios de la Ley de Fórmula Infantil (21 USC §350(a) y siguientes) y se pretende que reemplace o complemente a la leche materna humana. Aunque dichas fórmulas están disponibles en al menos tres formas distintas (polvo, concentrado líquido y líquido listo para tomar ("RTF")), es convencional hablar de las concentraciones de nutrientes "según se alimente" y por lo tanto el RTF se describe con frecuencia, entendiéndose que las otras formas se reconstituyen o se diluyen de acuerdo con las instrucciones del fabricante hasta esencialmente la misma composición y que un experto en la materia puede calcular la composición relevante para formas concentradas o en polvo.

15 La fórmula infantil "convencional" o "a término" se refiere a la fórmula infantil orientada a niños que han nacido a término como una primera alimentación. La Tabla A, posteriormente, proporciona algunas características pertinentes de la fórmula a término, así como otros tipos analizados posteriormente. Los componentes de proteínas, grasas y carbohidratos proporcionan, respectivamente, del 8 al 10, del 46 al 50 y del 41 al 44 % de las calorías; y la densidad calórica varía estrechamente de 660 a 700 kcal/l (o 19-21 Cal/fl.oz.), habitualmente de 675 a 680 (20 Cal/fl.oz.). La distribución de calorías entre los componentes de grasas, proteínas y carbohidratos puede variar algo entre diferentes fabricantes de fórmula infantil a término. De forma similar, otros nutrientes, tales como vitaminas, minerales, minerales traza y taurina, carnitina y nucleótidos varían más ampliamente y por lo tanto no se usan como características definitorias. SIMILAC™ (Ross Products Division, Abbott Laboratories), ENFAMIL™ (Mead Johnson Nutritional), y GOOD START™ (Carnation) son ejemplos de fórmula infantil a término.

20 Por el contrario, la fórmula "enriquecida con nutrientes" se refiere a fórmula infantil que está reforzada en relación con la fórmula "convencional" o "a término". La característica definitoria primaria que diferencia fórmulas enriquecidas con nutrientes es la densidad calórica; un factor secundario es la concentración de proteína (véase Tabla A). Por ejemplo, una fórmula con una densidad calórica por encima de 700 Kcal/l o una concentración de proteínas por encima de 18 g/l se consideraría "enriquecida con nutrientes". Las fórmulas enriquecidas con nutrientes típicamente contienen también mayores niveles de calcio (por ejemplo por encima de 650 mg/l) y/o fósforo (por ejemplo por encima de 450 mg/l).

25 Como se usa en el presente documento, hay dos tipos de fórmulas enriquecidas con nutrientes. El tipo I, también conocido como fórmula "pretérmino", "prematura" o "en hospital", es fórmula diseñada para promover el crecimiento del niño prematuro a velocidades intrauterinas sin alterar la homeostasis metabólica. Las fórmulas de Tipo I se caracterizan por la mayor densidad calórica, típicamente de 790 a 820 kcal/l (o 23-25 Cal/fl.oz.), preferentemente de 800 a 810 (24 Cal/fl.oz.). El Tipo I se diferencia además por las mayores concentraciones de calcio (por encima de 1200 mg/l, preferentemente de 1300 a 1800 mg/l) y fósforo (por encima de 600 mg/l, preferentemente de 700 a 1000 mg/l). Los ejemplos de fórmulas enriquecidas con nutrientes de Tipo I incluyen SIMILAC SPECIAL CARE™ con Hierro 24 (Ross Products Division) y ENFAMIL PREMATURE Formula™ con Hierro 24 (Mead Johnson).

30 La fórmula enriquecida con nutrientes de tipo II, también conocida como fórmula "postalta", es intermedia en fortificación. Por ejemplo, la fórmula de Tipo II puede tener una densidad calórica que varía de más de 700 a casi 800, preferentemente de aproximadamente 740 a 755 Kcal/l; una concentración de calcio de 650 a 1200, preferentemente de 700 a 1000 mg/l; y una concentración de fósforo de 440 a 550, preferentemente de 440 a 520 mg/l. Los niños con bajo peso al nacer y niños prematuros mayores que se destetan a partir de una fórmula de Tipo I probablemente aún requiera una fórmula que tenga más densidad de energía y nutrientes que la fórmula a término convencional. Esto puede producirse durante la hospitalización, después del alta o, más típicamente, tras el alta del hospital. Los ejemplos de fórmulas enriquecidas con nutrientes de Tipo II incluyen SIMILAC NEOSURE™ (Ross Products Division) y ENFAMIL 22™ (Mead Johnson), recientemente renombrada ENFAMIL ENFACARE™.

Tabla A. Características pertinentes de diferentes tipos de fórmula infantil

	Fórmula enriquecida con nutrientes (Tipo I)	Fórmula enriquecida con nutrientes (Tipo II)	Fórmula Convencional
nombre común	"prematura" u "hospital"		"a término"
Ejemplo de producto disponible en el mercado	SIMILAC SPECIAL CARE 24	SIMILAC NEOSURE	SIMILAC
Densidad Calórica* kcal/l	800-810	740-755	670-680
Distribución calórica: %			
proteínas	10-12	9-11	9-10
grasa	46-50	46-50	46-50
carbohidratos	41-44	41-44	41-44
Contenido Proteico			
g/l	20-26	18-22	12-18
g/100 Kcal	2,7-3,2	2,5-2,9	2,05-2,25
Contenido Graso			
g/l	40-45	38-42	34-38
g/100 Kcal	5,0-5,7	5,0 - 5,7	5,0 - 5,7
Contenido de Carbohidratos			
g/l	80-90	70 - 85	65 - 80
g/100 Kcal	10,5-11,4	10,1 - 11	10,1-11
Otras Características			
Calcio			
mg/l	1300-1800	700 - 1000	350-650
mg/100 Kcal	150 - 225	95 - 130	50-95
Fósforo			
mg/l	700 - 1000	440 - 520	225 - 500
mg/100 Kcal	85 - 125	60 - 70	35 - 75

* una característica definitoria que distingue el Tipo I del Tipo II y de la fórmula a Término

5 Una fórmula enriquecida con nutrientes preferentemente contiene LCP. Se ha mostrado que los niños a término sanos pueden realizar AA y ADH a partir de ácidos grasos precursores esenciales en la dieta, ácidos linoleico y α -linolénico, respectivamente. Por lo tanto, no parece haber una justificación médica para complementar la fórmula a término con LCP, siempre que se proporcionen suficientes ácidos grasos esenciales precursores. Como resultado del presente estudio, se ha demostrado ahora un beneficio clínico estadísticamente significativo, previamente desconocido, en el caso de niños prematuros, especialmente niños prematuros muy pequeños (menos de 1250 g).
10 La complementación de fórmula enriquecida con nutrientes con LCP debería incluir preferentemente al menos AA y ADH, preferentemente no debería incluir altos niveles de AEP. Se prefieren aceites de pescado bajos en AEP por esta razón si se emplea una fuente de aceite de pescado de ADH.

15 Los niveles exactos de complementación de LCP se siguen discutiendo. Existe una amplia variación en los niveles hallados en la leche humana dependiendo de la dieta, el estadio de lactancia y otros factores. Jenson (1996, 1999) indicó que las mujeres occidentales típicamente tenían menores niveles de LCP en la leche que mujeres no occidentales. Algunos partidarios abogan por complementar la fórmula infantil con niveles de ADH y AA cercanos al extremo superior de los promedios indicados para la leche humana, especialmente para occidentales cuyas dietas típicamente producen niveles promedio menores. Los solicitantes han descubierto, sin embargo, que niveles menores de AA y ADH de lo que se pensaba previamente puede usarse demostrando aún efectos beneficiosos,
20 siempre que se empleen niveles adecuados de los ácidos grasos precursores esenciales y regímenes de alimentación adecuados. Las rutas biosintéticas de elongamiento y desaturación que conducen a la síntesis de LCP se entienden en general y se describen en la Patente de Estados Unidos 5.223.285. Por lo tanto se sabe que el linoleico (18:2n-6, "LA") e intermedios γ -linolénico (18:3n-6, "GLA") y dihomo- γ -linolénico (20:3n-6, "DH-GLA") son precursores importantes para AA (20:4n-6). De forma similar, el α -linolénico (18:3n-3, "ALA") y los intermedios estearodónico (18:4n-3) y AEP (20:5n-3) son precursores importantes para ADH (22:6n-3).
25

Se desvela en el presente documento que los niveles de ADH y AA y los niveles de los precursores respectivos ALA y LA están interrelacionados en una relación más o menos inversa que puede expresarse de múltiples maneras. Esto ha conducido al presente descubrimiento de que pueden proporcionarse menores niveles (por lo tanto

potencialmente más seguros) de ADH y AA sin pérdida de los efectos beneficiosos. Por ejemplo, si están presentes niveles mínimamente eficaces de ADH y AA, puede usarse la relación de ALA/ADH y las relaciones de LA/AA. Por lo tanto, los niveles de ADH y AA como porcentaje de ácidos grasos totales en una composición enriquecida con nutrientes tal como fórmula infantil pueden permanecer por debajo del 0,36 % y 0,7 %, respectivamente, preferentemente por debajo del 0,3 % y 0,5 %, respectivamente, siempre que la relación de ALA/ADH varíe de 4 a 20, preferentemente de 6 a 15, y la relación de LA/AA varíe de 5 a 40, preferentemente de 10 a 25. En otra variación, esta relación inversa puede expresarse especificando niveles máximos para los LCP y niveles mínimos para los precursores respectivos. De esta manera, la invención se expresa por una composición enriquecida con nutrientes que tiene, como porcentaje (p/p) de ácidos grasos totales, no más del 0,3 % de ADH y 0,5 % de AA, teniendo al mismo tiempo al menos 2 % de ALA y 15 % de LA.

Dichas composiciones de acuerdo con la invención, aunque inventivas aparte de su uso, pueden usarse idealmente en combinación con los regímenes de alimentación descritos en el presente documento para conseguir los efectos de desarrollo ventajosos descritos en el presente documento. Más preferentemente las composiciones se emplean en regímenes de alimentación que consiguen los efectos ventajosos descritos en el presente documento sin padecer el crecimiento entrecortado normalmente adjunto que sucede típicamente entre el 3er y 12º mes EC cuando se alimenta a los niños prematuros con ADH.

Las composiciones de acuerdo con la invención pueden proporcionar del 100 % al 50 % del consumo calórico diario. Si se alimentan neonatos con la fórmula, esta puede complementarse con algo de leche humana. Y a medida que el niño llega a aproximadamente 2-4 meses EC, los alimentos sólidos comienzan con frecuencia a aportar algunas de las calorías y la cantidad de fórmula puede reducirse como un porcentaje del consumo calórico total.

El nivel de un ácido graso particular en una fórmula se expresa típicamente como porcentaje de los ácidos grasos totales. Este porcentaje multiplicado por la concentración absoluta de ácidos grasos totales en la fórmula (bien como g/l o g/100 kcal) proporciona la concentración absoluta del ácido graso de interés (en g/l o g/100 kcal, respectivamente). Los ácidos grasos totales se estiman como aproximadamente el 95 % de grasa total para tener en cuenta el peso de la cadena principal de glicerol. La conversión de mg/100 kcal a mg/l es un cálculo sencillo que depende de la densidad calórica como se conoce por los expertos en la materia. En consecuencia, en diversas realizaciones preferidas y más preferidas, los niveles de LCP en las fórmulas enriquecidas con nutrientes son aproximadamente los niveles expuestos en la Tabla B.

Tabla B. Niveles de LCP seleccionados en fórmula enriquecida con nutrientes

	Enriquecida con Nutrientes de Tipo I			Enriquecida con Nutrientes de Tipo II		
	Intervalo	Preferida	Más preferida	Intervalo	Preferida	Más preferida
como porcentaje de ácidos grasos (plp)						
AA	0,2 - 1,0	0,35 - 0,7	0,4 - 0,5	0,2 - 1,0	0,35 - 0,7	0,4 - 0,5
ADH	0,15 - 1,0	0,19 - 0,36	0,22 - 0,3	0,1 - 1,0	0,1 - 0,36	0,1 - 0,2
Linoleico (LA)	10 - 30	15 - 25	15 - 20	12 - 30	15 - 25	15 - 20
α-linolénico (ALA)	1,5 - 4,0	2,0 - 3,0	2,3 - 2,8	1,5 - 4,0	2,0 - 3,0	2,2 - 2,6
como mg de ácidos grasos/100 kcal de fórmula						
AA	10 - 50	18 - 36	20 - 25	10 - 50	18 - 36	20 - 25
ADH	5 - 50	9 - 18	11 - 15	3 - 50	5 - 20	5 - 12
Linoleico (LA)	500 - 1550	750 - 1300	750 - 1025	600 - 1550	750 - 1300	750 - 1025
α-linolénico (ALA)	75 - 200	100 - 155	115 - 145	76 - 200	100 - 155	110 - 145
como relación en peso						
LA/AA	2 - 75	20 - 60	30 - 50	2 - 75	30 - 65	40 - 60
ALA/ADH	2 - 40	4 - 20	6 - 15	2 - 40	5 - 40	10 - 25

Se prefieren aún más fórmulas que tengan niveles de LCP que se dirijan a aproximadamente los niveles descritos en la Tabla 1b del Ejemplo 1. Los niveles expuestos en la Tabla B se basan en una fórmula que tiene un contenido de ácidos grasos típico de 34 a 45 g/l como se muestra en la Tabla A. En el caso de que el contenido de ácidos grasos del producto general se desvíe de este intervalo, un experto en la materia puede determinar qué ajustes realizar a estos intervalos para proporcionar los LCP equivalentes al niño.

Como alternativa, los niveles adecuados de estos LCP pueden determinarse basándose en el consumo diario deseado de los LCP relevantes por kg de peso corporal (véase Tabla C). Según una estimación, los niños prematuros deberían consumir aproximadamente 120 kcal/kg de peso corporal / día hasta aproximadamente el alta hospitalaria (típicamente aproximadamente EC a término) y en lo sucesivo aproximadamente 100 kcal/kg de peso corporal / día. Hasta aproximadamente 2 a 4 meses EC, la única fuente de estas calorías es típicamente leche humana, una fórmula, preferentemente una fórmula enriquecida con nutrientes de Tipo I o II, o ambas.

Aproximadamente de 2 a 4 meses EC, los niños comienzan a tomar cereales u otros alimentos sólidos como parte de su consumo calórico, y se ha estimado que a los 12 meses el 60 % del consumo calórico viene de la leche o la fórmula, siendo el 40 % restante de otros alimentos. Esta tendencia de consumo de fórmula reducido a lo largo del tiempo explica la reducción del consumo de ADH y AA a lo largo del tiempo como se muestra en la Tabla C. A medida que los niños consumen más alimentos sólidos que contienen poco o ningún ADH y AA, su consumo diario desciende. Este efecto es más pronunciado con fórmula de Tipo II ya que el Tipo II tiene más probabilidad que el Tipo I de ser la fórmula con la que se alimenta durante el tiempo en que los alimentos sólidos comienzan a aportar el consumo calórico. Y también explica por qué, en promedio, pueden encontrarse menores niveles de consumo tanto de AA como de ADH para fórmula de Tipo II, incluso aunque la fortificación de AA es preferentemente la misma tanto para Tipo I como para Tipo II (compárese con Tabla B).

Tabla C. Niveles de consumo diario de LCP seleccionados en fórmula enriquecida con nutrientes

	Enriquecida con Nutrientes de Tipo I			Enriquecida con Nutrientes de Tipo II		
	Intervalo	Preferida	Más preferida	Intervalo	Preferida	Más preferida
Como AA de consumo en mg/kg de peso corporal/día por estadio						
en hospital	5-65	10-35	18-24	2-50	-	-
al alta o EC a término	5-65	15-50	25-40	2-50	-	-
a los 2 meses EC	5-65	-	-	2-50	5-40	20-35
a los 4 meses EC	5-65	-	-	2-50	5-40	20-35
a los 6 meses EC	2-65	-	-	2-50	5-40	18-30
a los 9 meses EC	2-65	-	-	2-50	2-30	15-25
a los 12 meses EC	2-65	-	-	2-50	2-30	10-25
Como ADH de consumo en mg/kg de peso corporal/día por estadio						
en hospital	2-65	8-25	11-16	1-40	-	-
al alta o EC a término	2-65	10-35	15-26	1-40	-	-
a los 2 meses EC	2-65	-	-	1-40	3-20	7-14
a los 4 meses EC	2-65	-	-	1-40	3-20	7-14
a los 6 meses EC	2-65	-	-	1-40	3-18	5-12
a los 9 meses EC	2-65	-	-	1-40	2-15	4-10
a los 12 meses EC	2-65	-	-	1-40	2-14	3-10
Como consumo en mg/kg de peso corporal/día de niveles compuestos típicos a aproximadamente EC a término						
AA	2-65	10-50	20-40	2-50	5-40	20-35
ADH	2-65	10-35	11-26	1-40	3-20	7-14
Linoleico (LA)	500-2000	600-1800	900-1500	500-2000	600-1800	900-1500
α-linolénico (ALA)	50 - 300	50-250	100-200	50-300	50-250	100-200

De forma similar, los neonatos aumentan gradualmente el consumo a lo largo de las primeras semanas de vida, de modo que no es sorprendente que los consumos diarios mayores se encuentren aproximadamente en el momento del alta o poco después. Los consumos de LCP diarios representados a lo largo del tiempo producen de este modo curvas arqueadas, amplias, que tienen máximos. Los valores de consumo de AA, ADH, LA y ALA compuestos proporcionados en la parte inferior de la Tabla C son típicos desde el momento de aproximadamente el alta o EC a término hasta aproximadamente 2 a 4 meses EC. A continuación, se esperarían valores de consumo menores, hasta el 40 %, de acuerdo con la invención.

Visto de otro modo, los consumos deseados de ADH en mg/kg de peso corporal/día varían de 2 a 65, preferentemente de 3 a 35, y más preferentemente de 7 a 26; mientras que los consumos deseados de AA en mg/kg de peso corporal/día varían de 2 a 65, preferentemente de 5 a 50 y más preferentemente de 20 a 40. Estos intervalos más amplios pueden subdividirse en intervalos específicos para fórmulas de Tipo I y Tipo II como se muestran en la Tabla C o posteriormente. Los consumos en mg/kg/día para ADH a partir de una fórmula de Tipo I varían típicamente de 5 a 40, preferentemente de 10 a 30, más preferentemente de 10 a 20. La dosificación en mg/kg/día para ADH a partir de una fórmula de Tipo II típicamente varía de 2 a 20, preferentemente de 4 a 12 o 15, más preferentemente de 6 a 10. Y la dosificación preferida en mg/kg/día para AA de una fórmula de Tipo I o una de Tipo II varía de 5 a 90, preferentemente de 10 a 40, más preferentemente de 15 a 30. Los intervalos de dosificación anteriores son alternativos a los proporcionados en la Tabla C.

“A término” y “Prematuro” como se usan en la presente solicitud hacen referencia al periodo gestacional convencional para seres humanos. Por lo tanto, un niño “a término” normal nace de 37 a 42 semanas después de la

concepción, mientras que un niño “prematureo” es uno que nace antes de 37 semanas después de la concepción. Aunque es posible que la concepción real no pueda determinarse con precisión, puede basarse aproximadamente en el último ciclo menstrual y/o en otras estimaciones objetivas, tales como evaluaciones de ultrasonidos tempranas o evaluaciones neonatales clínicas tales como Ballard. La elección de qué método usar en el caso de resultados discrepantes es con frecuencia un asunto de la preferencia del médico o la institución.

Los niños prematuros no han tenido el beneficio del sistema de soporte vital de la madre durante el periodo gestacional completo y en consecuencia tienen muchos órganos y sistemas poco desarrollados. Los niños prematuros se enfrentan a intentar alcanzar el crecimiento y desarrollo relativo de sus compañeros a término. El concepto de “edad corregida” (EC) se ha usado para normalizar los niños prematuros con sus compañeros a término con el fin de comparar su crecimiento y desarrollo. Por ejemplo, un niño prematuro nacido 8 semanas antes de tiempo, alcanza la “edad corregida a término” aproximadamente a los 2 meses de edad cronológica, y a los 6 meses de edad cronológica puede ser equivalente en desarrollo a un niño a término de 4 meses de edad. El objetivo de “alcance” es conseguir un estado del desarrollo más similar al de sus compañeros de edad cronológica.

Los niños prematuros reciben con frecuencia nutrición primero por vía parenteral, y muchos reciben leche humana durante al menos parte del periodo inicial. La “primera alimentación entérica” como se usa en el presente documento, se refiere al primer momento en que el intestino del niño se expone a composiciones nutritivas, incluyendo leche humana, y puede incluir alimentos tróficos y otros usados para preparar y acondicionar el intestino. No es poco común en estudios de la técnica anterior que los bebés se “admitan” solamente después de haber recibido 50 % o 100 % de su consumo calórico diario como fórmula; es decir después de haber establecido tolerancia a la fórmula. Esto tiene el efecto de eliminar del estudio cualquier bebé que sea intolerante a la fórmula por cualquier razón. La primera alimentación entérica como se usa en el presente documento no se basa en haber establecido esta tolerancia. La “primera alimentación de fórmula” es la primera alimentación usando una fórmula infantil artificial, en lugar de leche humana. Puede ser o no la primera alimentación entérica.

Es clave para algunos aspectos de la presente invención un régimen de alimentación “de alcance” que utiliza una fórmula enriquecida con nutrientes durante un periodo de tiempo prolongado. El periodo prolongado comienza antes en la vida del niño y dura más. La alimentación con una fórmula enriquecida con nutrientes durante el periodo prolongado produce desarrollo mejorado en los niños prematuros.

Más generalmente, este aspecto de la invención comprende comenzar con una fórmula enriquecida con nutrientes tan pronto como sea posible, potencialmente tan pronto como en la primera alimentación entérica (DÍA E 1) y continuarla más allá del alta hospitalaria hasta al menos 6 meses EC, preferentemente hasta al menos 9 meses EC y más idealmente hasta al menos 12 meses EC e incluso más allá. Puede usarse una fórmula enriquecida con nutrientes bien de Tipo I o bien de Tipo II, preferentemente que contenga LCP ADH y AA. De acuerdo con una realización variante, se alimenta con una fórmula enriquecida con nutrientes de Tipo I desde la primera alimentación de fórmula, preferentemente desde la primera alimentación entérica, hasta el alta hospitalaria o aproximadamente EC a término, seguido de un segundo estadio usando una fórmula enriquecida con nutrientes de Tipo II hasta al menos 6 meses EC, preferentemente aún más, por ejemplo 9 o 12 meses EC. De acuerdo con estos regímenes de alimentación, no es poco habitual que el niño consuma leche humana además de la fórmula enriquecida con nutrientes durante los estadios tempranos de vida, y, en estadios posteriores, que consuma cereales y otros alimentos semisólidos junto con la fórmula enriquecida con nutrientes.

En un hallazgo sorprendente, los desarrollos neurológicos potenciados analizados en el presente documento se encontraron incluso aunque el grupo de control recibió algo de consumo de ADH y AA a través de la leche humana, que se permitió en los grupos tanto de control como experimentales. Este hecho tendería a minimizar cualquier efecto visto, minimizando las diferencias entre grupos.

La maduración del niño, es decir crecimiento y desarrollo, se evalúa de muchas maneras. Como se usa en el presente documento, “crecimiento antropométrico” o simplemente “crecimiento” se refiere en general al aumento del tamaño físico del niño y se mide por medidas físicas tales como peso, longitud y circunferencia craneal. Estos parámetros se analizan adicionalmente en la sección 1.3.1. Es importante observar que el estudio clínico que forma la base de la presente invención admitió niños prematuros que, en general, eran más pequeños que los estudios de la técnica anterior. Además, se vieron ciertos efectos beneficiosos solamente en los niños prematuros “pequeños”. Aunque “pequeño” es un término relativo, particularmente cuando se hace referencia a niños prematuros, se usa en el presente documento para indicar niños con un peso al nacer de menos de 1400 g, preferentemente menos de 1250 g.

Además del “crecimiento” físico, hay otros parámetros de maduración o “desarrollos” que pueden evaluarse en niños, concretamente neurológicos. Aunque estos desarrollos neurológicos pueden basarse en parte en la maduración fisiológica, se tratan de forma distinta de la antropometría. Los desarrollos neurológicos principales estudiados en niños son: desarrollo visual, desarrollo mental, desarrollo motor y desarrollo del lenguaje, cada uno analizado posteriormente. Es notable que los desarrollos neurológicos potenciados que se observaron se produjeron sin ninguna inhibición o interrupción del crecimiento antropométrico como se vio en estudios anteriores.

El "Desarrollo Visual" se refiere en general a las membranas retinianas, el nervio óptico y los centros de la visión del cerebro. Se sabe que las membranas fotorreceptoras retinianas contienen la concentración más alta del cuerpo de ADH, y la acumulación de ADH en el cerebro y la retina es más rápida durante el último trimestre intrauterino. En consecuencia se ha postulado que los niños prematuros pueden requerir complementación nutricional con LCP para compensar déficits resultantes del tiempo en útero reducido en el trimestre final. Varias medidas son útiles para evaluar el desarrollo visual, incluyendo Agudeza de Potencial Evocado Visual o "Agudeza VEP" y el Ensayo de Agudeza Visual de Teller. Estos se describen en más detalle en la sección 1.3.3 y 1.3.4 posteriores. Un tercer método es la Sensibilidad de Contraste de VEP, que se describe en más detalle en la sección 1.3.5.

El "Desarrollo Mental" se refiere en general al crecimiento del cerebro y sistema neurológico y a la capacidad del niño para asimilar y procesar información. Tiene aspectos mentales o cognitivos así como aspectos motores. Los métodos usados para evaluar el Desarrollo Mental incluyen el Índice de Desarrollo Mental de Bayley o "IDM". El ensayo de "mirada" de Fagan evalúa el procesamiento de información y es otra medida en el desarrollo mental. El "Desarrollo Motor" se refiere a la capacidad de un niño para controlar y coordinar sus músculos para realizar movimientos deseados, otra medida del desarrollo neurológico. El Índice de Desarrollo Psicomotor de Bayley o "IDP" puede usarse para evaluar habilidades motoras. Cada uno de estos ensayos se describe en más detalle en las secciones 1.3.6 y 1.3.7 posteriores.

"Desarrollo del Lenguaje" se refiere a la adquisición y utilización de palabras, especialmente vocabulario, y se considera otra medida más del desarrollo neurológico. El desarrollo del lenguaje puede evaluarse por varios métodos, incluyendo el ensayo de lenguaje/vocabulario de MacArthur, que se describe en más detalle en la sección 1.3.8 posterior.

Proceso de fabricación

Los productos nutricionales líquidos y en polvo de la presente invención pueden fabricarse por técnicas en general convencionales conocidas por los expertos en la materia. Brevemente, se preparan tres suspensiones, se mezclan entre sí, se tratan con calor, se normalizan, se secan por pulverización (si es aplicable), se envasan y se esterilizan (si es aplicable).

Productos líquidos

Se prepara una suspensión de carbohidratos/minerales calentando en primer lugar el agua hasta una temperatura elevada con agitación. Después se añaden minerales. Los minerales pueden incluir, pero sin limitación, citrato sódico, cloruro sódico, citrato potásico, cloruro potásico, cloruro de magnesio, fosfato tricálcico, carbonato cálcico, yoduro potásico y premezcla de minerales traza. Una fuente de carbohidratos, tal como uno más de lactosa, sólidos de jarabe de maíz, sacarosa y/o maltodextrina se disuelven en el agua, formando de este modo una solución de carbohidratos. También puede añadirse una fuente de fibra de la dieta, tal como polisacárido de soja. La suspensión de carbohidratos/minerales completada se mantiene con agitación a temperatura elevada hasta que se mezcla con las otras suspensiones, preferentemente durante no más de aproximadamente doce horas.

Se prepara una suspensión oleosa combinando y calentando la mezcla de aceites básica. La mezcla de aceites básica contiene típicamente alguna combinación de aceite de soja, coco, oleína de palma, de cártamo alto oleico o de girasol y triglicéridos de cadena media. Pueden usarse emulsionantes, tales como ésteres de ácido diacetil tartárico de mono, diglicéridos, mono, diglicéridos de soja y lecitina de soja. Puede añadirse cualquiera o todas de las vitaminas solubles en aceite A, D, E (forma R,R,R natural o sintética) y K individualmente o como parte de una premezcla. También puede añadirse beta caroteno que puede actuar como un antioxidante *in vivo*, así como un estabilizante tal como carragenina. Pueden añadirse aceites que contienen LCP específicos importantes para la presente invención (por ejemplo, ADH y AA) a la suspensión oleosa. Debe tenerse cuidado con estos LCP ya que se degradan fácilmente y se vuelven rancios. La suspensión oleosa completada se mantiene en agitación hasta que se mezcla con las otras suspensiones, preferentemente durante un periodo de no más de aproximadamente doce horas.

Se prepara una proteína en suspensión acuosa calentando en primer lugar agua hasta una temperatura elevada apropiada con agitación. La fuente de proteína se añade después al agua con agitación. Típicamente esta fuente de proteínas es proteínas de la leche intactas o hidrolizadas (por ejemplo suero, caseína), proteínas vegetales intactas o hidrolizadas (por ejemplo soja), aminoácidos libres y mezclas de los mismos. En general, puede usarse en la presente invención cualquier fuente de nitrógeno de amino conocida. La suspensión de proteínas completada se mantiene con agitación a temperatura elevada hasta que se mezcla con las otras suspensiones, preferentemente durante un periodo no mayor de aproximadamente dos horas. Como alternativa, puede mezclarse alguna proteína en una emulsión de proteína en grasa en lugar de proteína en agua.

Las suspensiones de proteína en agua y carbohidratos/minerales se mezclan entre sí con agitación y la suspensión mezclada resultante se mantiene a una temperatura elevada. Después de un breve retardo (por ejemplo algunos minutos), la suspensión oleosa se añade a la suspensión mezclada de la etapa precedente con agitación. Como alternativa a la adición a la mezcla de aceites, los aceites LCP pueden añadirse directamente a la mezcla resultante

de combinar las suspensiones de proteínas, carbohidratos/minerales y aceites.

Después de agitación suficiente para combinar exhaustivamente todos los constituyentes, el pH de la mezcla completada se ajusta al intervalo deseado. La suspensión mezclada se somete después a desgasificación, tratamiento con calor a temperatura ultra alta, emulsión y homogeneización, después se enfría hasta temperatura refrigerada. Preferentemente, después de completarse las etapas anteriores, se realizan ensayos analíticos apropiados para control de calidad. Basándose en los resultados analíticos de los ensayos de control de calidad, se añade una cantidad apropiada de agua al lote con agitación para dilución.

Se prepara una solución de vitaminas, que contiene vitaminas solubles en agua y minerales traza (incluyendo seleniato sódico), y se añade a la mezcla de suspensión procesada con agitación. Se prepara una solución separada que contiene nucleótidos y también se añade a la suspensión mezclada procesada con agitación.

El pH del producto final puede ajustarse de nuevo para conseguir estabilidad del producto óptima. El producto completado se usa después para llenar los recipientes metálicos, de vidrio o de plástico apropiados y se somete a esterilización terminal usando tecnología convencional. Como alternativa, un producto líquido puede esterilizarse de forma aséptica y usarse para llenar recipientes de plástico.

Productos en polvo

Se prepara una mezcla de carbohidratos/minerales como se ha descrito anteriormente para fabricación de productos líquidos.

Se prepara una suspensión oleosa como se ha descrito anteriormente para fabricación de productos líquidos con las siguientes excepciones: 1) típicamente no se añaden al polvo emulsionantes (mono, diglicéridos, lecitina) y estabilizantes (carragenina), 2) Además del beta caroteno, pueden añadirse otros antioxidantes, tales como tocoferoles mezclados y ascorbil palmitato, para ayudar a mantener la calidad oxidativa del producto durante cualquier proceso de secado por pulverización posterior, y 3) Los LCP específicos importantes para la presente invención se añaden después de mezclar las suspensiones, en lugar de a la suspensión oleosa.

Se prepara una proteína en suspensión acuosa como se ha descrito anteriormente para fabricación de producto líquido.

La suspensión de carbohidratos/minerales, suspensión de proteína en agua y suspensión oleosa se mezclan entre sí de una manera similar a la descrita para fabricación de productos líquidos. Después del ajuste de pH de la mezcla completa, se añaden LCP a la suspensión mezclada con agitación. Convenientemente, los LCP se dosifican lentamente en el producto a medida que la mezcla pasa a través de un conducto a una velocidad constante justo antes de la homogeneización (mezcla en línea).

Después de la desgasificación, tratamiento térmico con temperatura ultra alta, emulsión y homogeneización, la mezcla procesada puede evaporarse para aumentar el nivel de los sólidos de la mezcla para facilitar un secado por pulverización más eficaz. La mezcla pasa después a través de un precalentador y una bomba de alta presión y se seca por pulverización usando tecnología de secado por pulverización convencional. El polvo secado por pulverización puede aglomerarse, y después se empaqueta en latas metálicas o de plástico o bolsillos de papel metálico/laminados al vacío, con nitrógeno o en otro ambiente inerte.

Se conocen o resultarán fácilmente evidentes para los expertos en la materia variaciones sobre cualquiera de estos procesos de fabricación. No se pretende que la invención se limite a ningún proceso de fabricación particular. El texto completo de todas las Patentes de Estados Unidos mencionadas en el presente documento se incorpora por referencia.

Los siguientes Ejemplos son parte de la presente invención en la medida aplicable.

Ejemplo 1: estudio clínico

1.1 Selección de muestras de estudio

Se admitieron cuatrocientos setenta niños prematuros (< 33 semanas de edad gestacional) con pesos al nacer de 750 a 1805 g entre octubre de 1996 y enero de 1998 de las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (NICU) que aceptaron colaborar con los investigadores del estudio localizados en Cleveland, OH; Kansas City, MO; Little Rock, AR; Londres, Reino Unido; Louisville, KY; Portland, OR; Nueva York, NY; y Santiago, Chile. Para evaluar el impacto de la alimentación del estudio en la tolerancia a alimentación temprana, los niños debían admitirse en un periodo de 72 horas desde su primera alimentación entérica (incluyendo alimentaciones tróficas o agua) y era necesario que la alimentación entérica se iniciara durante los primeros 28 días de vida. Se permitió que participaran nacimientos individuales y gemelares y niños pequeños para la edad gestacional. No podrían elegirse para participar niños con anomalías congénitas graves que podrían afectar al crecimiento y desarrollo o que se habían sometido a cirugía mayor antes de la selección aleatoria. Otros criterios de exclusión incluyeron hemorragia

periventricular/intraventricular > Grado II, incapacidad materna incluyendo abuso de cocaína o alcohol materno durante el embarazo u oxigenación de membrana extracorpórea, simultánea, ventilación líquida, asfixia que diera como resultado daño neurológico grave y permanente, o infección sistémica descontrolada en el momento de la admisión. Excepto por los criterios de admisión en un periodo de 72 horas de la primera alimentación entérica en la que el 8 % de los sujetos se admitieron fuera de este intervalo prescrito, el 99 % de los sujetos de estudio cumplieron todos los criterios de inclusión y exclusión indicados.

1.2 Diseño experimental

10 1.2.1 Fórmula de estudio

Se prepararon fórmulas enriquecidas con nutrientes que contenían ADH y AA de acuerdo con los procedimientos generales perfilados anteriormente. Las versiones modificadas de SIMILAC SPECIAL CARE (Tipo I) y SIMILAC NEOSURE (Tipo II) usadas en el presente estudio difirieron de las versiones comerciales de estos productos porque contenían nucleótidos, tenían una relación de suero frente a caseína modificada (~50:50) y contenían β caroteno y vitamina E natural (RRR α -tocoferol) en lugar de una versión sintética. El producto NeoSure también contenía una proporción aumentada de lactosa como el carbohidrato. Estas modificaciones se exponen en la Tabla 1a.

	<i>Fórmula en Hospital (Tipo I)</i>		<i>Fórmula postalta (Tipo II)</i>	
	Media	Intervalo	Media	Intervalo
Nucleótidos, mg/l				
CMP	40,1	37,6 - 43,0	39,4	33,3 - 46,0
UMP	18,9	17,5 - 20,4	16,8	15,3 - 19,0
AMP	12,4	9 - 13,8	11,2	9,6 - 13,6
GMP	13,2	11,7 - 15,4	13,1	11,9 - 14,3
beta-caroteno, mg/l	0,60	0,55 - 0,64	0,5	0,43 - 0,54
Vitamina E, UI/l	40,2	38 - 42,9	30,5	28,7 - 32,4

La mezcla de grasas en SSC consistió en una mezcla de aceites de 30 % de soja, 20 % de coco y 50 % de triglicéridos de cadena media (MCT). La mezcla de grasas en polvo NeoSure consistió en aceites 28 % de soja, 20 % de coco, 25 % MCT y 27 % de cártamo alto oleico. Los niveles de aceite de coco se redujeron en las fórmulas complementadas con LCP para mantener el contenido de grasas total constante. En el grupo complementado con LCP, se añadieron fuentes de AA y ADH para conseguir un nivel promedio de 0,42 % y 0,26 % para la fórmula SCC y 0,42 % y 0,16 % para las fórmulas de NeoSure. En uno de los regímenes de fórmula de SSC-NeoSure, se añadieron aceite fúngico (SUN-TGA25, de *M alpina*; Suntory LTD; Osaka, Japón) y aceite de pescado bajo en AEP (relación de ADH con respecto a eicosapentaenoico [AEP] 5:1) de aceite de atún rico en ADH; Mochida International Co., Ltd.; Tokio, Japón para proporcionar AA y ADH, respectivamente. En el otro régimen de fórmula de SSC-NeoSure complementado con LCP, se usaron triglicéridos derivados de huevo ("TGD de huevo" - Eastman Chemical Co; Kingsport, TN, Estados Unidos) para proporcionar AA y ADH a ambas fórmulas y se usó un aceite de pescado bajo en AEP para proporcionar ADH adicional a la fórmula de SSC. Las fórmulas de control y de estudio tuvieron composiciones relevantes como se muestra en la Tabla 1b.

Ácido Graso	<i>Fórmula en Hospital (Tipo I)</i>			<i>Fórmula postalta (Tipo II)</i>		
	Control	AA+ADH Pescado/Fúngico	AA+ADH TDH/Pescado	Control	AA+ADH Pescado/Fúngico	AA+ADH TDH/Pescado
Número de Lotes	3	3	3	5	6	5
Saturado						
12:0 (ácido láurico)	9,4 \pm 0,2	8,1 \pm 0,1	5,8 \pm 0,3	9,5 \pm 0,3	8,5 \pm 0,4	6,1 \pm 0,4
14:0 (ácido mirístico)	3,6 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	3,4 \pm 0,2	2,4 \pm 0,2
16:0 (ácido palmítico)	5,3 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	6,4 \pm 0,1	6,3 \pm 0,2	6,4 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1
18:0 (ácido esteárico)	2,6 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	2,4 \pm 0,0	3,2 \pm 0,9

Monoinsaturado						
18:1 (ácido oleico)	8,2 ± 0,5	8,4 ± 0,7	9,8 ± 0,7	28,3 ± 0,6	27,9 ± 0,6	29,8 ± 0,4
Poliinsaturado						
18:2n-6 (ácido linoleico "LA")	16,0 ± 0,9	16,8 ± 1,0	17,5 ± 0,9	19,1 ± 1,1	19,5 ± 0,7	20,3 ± 0,4
18:3n-3 (ácido α -linolénico "ALA")	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,4 ± 0,2
20:4n-6 (AA)	ND	0,43 ± 0,02	0,41 ± 0,0	ND	0,43 ± 0,01	0,41 ± 0,02
20:5n-3 (AEP)	ND	0,08 ± 0,01	ND	ND	ND	ND
22:6n-3 (ADH)	ND	0,27 ± 0,04	0,24 ± 0,01	ND	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,02
relación LA/AA	-	aproximadamente 40	aproximadamente 40	-	aproximadamente 50	aproximadamente 50
relación ALA/ADH	-	aproximadamente 10	aproximadamente 10	-	aproximadamente 15	aproximadamente 15
Nivel de Proteína (g/l)	22,9	22,6	22,3	20,3	20,3	20,3
Densidad Calórica (kcal/l)	806	806	806	746	746	746

Los niveles de ácidos grasos se determinaron en el Departamento de Química Clínica, División de Productos de Ross, Abbott Laboratories. Abreviaturas: AA= ácido araquidónico; ADH= ácido docosahexanoico; TDH= TGD de huevo= triglicérido derivado del huevo; AEP= ácido eicosapentaenoico; ND= no detectable.

1.2.2 Grupos de estudio

5 Tras el consentimiento informado por escrito de al menos un padre o tutor, los niños se clasificaron aleatoriamente en uno de los tres grupos de fórmula de estudio con o sin los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga añadidos, AA y ADH; 1) control, 2) AA+ADH (pescado/fúngico), y 3) AA+ADH (TGD de huevo/pescado). El día de la primera alimentación entérica con este estudio se consideró el Día del Estudio (DÍA E) 1. El programa de selección aleatoria generado por ordenador se bloqueó con respecto a sitio, sexo y estrato de peso al nacer (750-1250 g y 1251-1800 g) usando un algoritmo de bloques permutados. Después de la selección aleatoria, los sujetos se alimentaron con LH y/o la fórmula prematura de Tipo I en hospital asignada (versión modificada de Similac Special Care[®] lista para alimentar [0,74 kcal/ml]; SSC) con o sin aceites de triglicéridos que contienen AA y ADH hasta su EC a término.

15 En EC a término, los niños se pasaron al estadio 2 y se les asignó una fórmula enriquecida con nutrientes de Tipo II postalta (versión modificada de polvo NeoSure[®] [0,71 kcal/ml]) con y sin las mismas fuentes de AA y ADH y/o LH hasta 12 meses EC. Estas fórmulas proporcionaron los ácidos grasos esenciales de la dieta, ácidos linoleico y α -linolénico (16-20 % y 2,5 % de ácidos grasos totales, respectivamente).

20 Durante la fase de planificación de este estudio, resulta evidente que la mayoría de los niños en los NICU participantes no se alimentaban exclusivamente con fórmula ni con LH, sino que la mayoría se alimentaban con una combinación de fórmula y LH. Por lo tanto, el estudio se diseñó para ajustarse a la alimentación con LH y en el momento de la primera alimentación con fórmula (DÍA E 1), los niños podrían haberse 1) alimentado con LHE, 2) alimentado exclusivamente con fórmula o 3) alimentado con una combinación de LH y fórmula. El momento y avance de la alimentación entérica, la duración de alimentación con LH, y la decisión con respecto a la complementación de la alimentación entérica estuvo completamente a discreción del personal médico excepto que el objetivo de la alimentación entérica fue > 120 kcal/kcal/día. Si se alimentó con LH, se sugirió que se fortificara hasta 0,71 a 0,74 kcal/ml y proporcionar un consumo proteico medio de 2,8 g/kg/d. Una implicación de esto es que los niños en los grupos de control podrían haber recibido algo de ADH y AA si recibieron algo de leche humana. Este hecho hace a los hallazgos del desarrollo potenciado en los grupos experimentales aún más atractivos.

1.3 Parámetros medidos

1.3.1 Crecimiento antropométrico

35 Se midieron el peso, la longitud y la circunferencia craneal el DÍA E 1 de acuerdo con procedimientos normalizados (Kocher 1991) (\pm 7 d) y fechas de nacimiento EC a término (\pm 7 d), 2- (\pm 7 d), 4- (\pm 7 d), 6- (\pm 7 d), 9- (\pm 7 d) y 12- (\pm 10 d) meses. Los niños se pesaron al menos una vez en el hospital y dos veces después del alta hospitalaria usando una balanza electrónica o de doble haz precisa hasta \pm 10 g (en el hospital) o \pm 20 g (postalta). Se midió la longitud acostado y la circunferencia craneal hasta los 0,1 cm más cercanos usando una regla con un cabecero fijado y un

estribo móvil (Ellard Length Board, Seattle, WA) y cinta métrica no elástica (InserTape[®], Ross Products Division, Abbott Laboratories, Columbus, OH), respectivamente. La longitud y circunferencia craneal se midieron al menos una vez en cada momento de medición en el hospital y dos veces después del alta hospitalaria.

5 1.3.2 Tolerancia a alimentación en hospital y problemas clínicos

El porcentaje de niños que retuvieron las alimentaciones entéricas durante al menos un día, el porcentaje de niños que retuvieron las alimentaciones entéricas debido a residuos gástricos y el número de días hasta alcanzar la alimentación entérica completa (100 kcal/kg/d), se determinaron revisando los registros médicos para cada niño para cada día de hospitalización inicial. De forma similar, se extrajeron de los registros médicos la incidencia de enterocolitis necrotizante sospechada (NEC), NEC confirmada (pruebas de neumatosis por rayos x, quirúrgicas o post mórtem, aire libre intestinal o gas en el tracto portal, o perforación), infección sistémica sospechada, infección sistémica confirmada (cultivo sanguíneo positivo) y enfermedad pulmonar crónica (oxígeno complementario después de 1 mes postnatal o 36 semanas EC).

15 1.3.3 Agudeza visual conductual

La agudeza visual conductual se evaluó usando el procedimiento de Tarjetas de Agudeza de Teller (Vistech Inc, Dayton, Teller, *et al.* 1986) a los 2, 4 y 6 meses EC (± 7 días). Se mostró a los niños una serie de tarjetas 25,5 x 51 cm con tiras en blanco y negro que variaban en su frecuencia espacial (anchura de la tira) de 38,0-0,32 ciclos/cm (un ciclo es una tira blanca y negra) en etapas de medio octavo. Un octavo es una partición a la mitad o una duplicación de la frecuencia espacial. La rejilla más fina (anchura de la tira) a la que el niño mostró una respuesta de fijación uniforme es el umbral de agudeza visual en ciclos/grado con la varianza (DT) en octavos. Uno de cada cuatro niños en estudio, y una pequeña cohorte de niños no del estudio antes de que los niños del primer estudio alcanzaran 2, 4 y 6 meses EC, se ensayaron por dos ensayadores entrenados en cada sitio para determinar la fiabilidad; se descubrió acuerdo $< 0,59$ octavos para el 95 % de los ensayos y $< 0,5$ octavos para el 78 % de los ensayos.

1.3.4 Agudeza de potencial evocado visual (VEP)

30 La agudeza visual se estimó usando un procedimiento de VEP (Hartmann, *et al.*, 1998; Zemon *et al.*, 1997) en los sitios de Kansas City, Nueva York y Portland solamente. Los niños [45 control, 50 AA+ADH (pescado/fúngico), 39 AA+ADH (TGD de huevo/pescado) y 23 con leche humana exclusiva LHE] se ensayaron a 4 y 6 meses EC (± 7 días): el electroencefalograma (EEG) se registró usando electrodos de EEG de tres copas de oro unidos con pasta soluble en agua a la superficie del cuero cabelludo del niño. Los electrodos se colocaron a lo largo de la línea media de la cabeza con el sitio activo en Oz, en referencia a la cúspide (Cz) y puesto a tierra medio camino entre estas dos localizaciones (Pz). El EEG se amplificó, se digitalizó y se almacenó en un ordenador (aumento = 20 K, pase de banda 0,5-100 Hz). Cada sitio de investigación usó un sistema de registro ENFANT para generar los estímulos, registrar las señales electrofisiológicas y almacenar los datos (Neuroscientific Corp, Farmingdale, NY). Este sistema basado en ordenador incluye amplificadores diferenciales aislados ópticamente, un convertidor de análogo a digital, soporte físico para generación de estímulos y una característica de linealización que incorpora tablas de búsqueda para corregir con respecto a distorsiones en la presentación visual. Los tres conjuntos de equipamiento se calibraron para producir respuestas equivalentes. El monitor de estímulo fue un monitor Nokia RGB (frecuencia de imagen no entrelazada = 59,98 Hz) con una luminancia promedio-espacio medio de 100 cd/m². Se presentaron rejillas de onda cuadradas horizontales en blanco y negro (contraste del 100 %) (es decir, tiras blancas y negras) en la pantalla y se invirtieron a contra fase a 7,5 Hz. Se presentó una serie de patrones de rejilla usando una técnica de parámetro de barrido. Específicamente, durante un único ciclo de parámetro de barrido (barrido), la frecuencia espacial de la rejilla se varió en seis etapas discretas. Cada etapa fue de aproximadamente un segundo de duración, y la frecuencia espacial aumentó en intervalos de octavos durante todo el procesamiento desde bajo a alto (tiras grandes a pequeñas; 0,8, 1,5, 3,0, 6,0, 12,0, 24,0 cic/d). Los niños se sentaron en el regazo de uno de los padres en una habitación a oscuras a una distancia de 114 cm desde la presentación de estímulos. El experimentador fue capaz de ver al niño e interrumpió el ensayo cuando el niño no miraba el estímulo y continuó el registro cuando la mirada del niño volvió a la pantalla.

Se realizó una transformación de Fourier discreta en cada época de 1 segundo del EEG. Los componentes seno y coseno de la segunda respuesta armónica para cada época correspondiente (bien 5 o bien 10 barridos) se promediaron por vector para producir una respuesta media. Los valores de amplitud y de fase se derivaron de estas medias. La estadística de Tcirc2 se aplicó para estimar un círculo de confianza al 95 % alrededor del vector medio y obtener una relación de señal frente a ruido (S:N; Zemon *et al.* 1997). Una verdadera respuesta se consideró presente cuando S:N > 1 . Se estimó la agudeza visual por interpolación lineal entre dos puntos adyacentes a un S:N = 1 (1 punto con S:N $>$ de 1 y el otro con S:N $<$ de 1). La frecuencia espacial a la que S:N = 1 se especificó como la estimación de agudeza.

1.3.5 Sensibilidad de contraste de VEP

65 La sensibilidad de contraste se estimó usando un procedimiento de VEP en los sitios de Kansas City, Nueva York y Portland solamente a 4 y 6 meses EC (± 7 días). El contraste se definió por la siguiente ecuación: $C = (L_{\text{máx}} - L_{\text{mín}})$ 4

($L_{\text{máx}} + L_{\text{mín}}$) donde C = contraste, $L_{\text{máx}}$ = luminancia máxima del patrón y $L_{\text{mín}}$ = luminancia mínima del patrón. Este procedimiento se llevó a cabo en la misma "vez" que el procedimiento de agudeza de VEP usando el soporte físico y colocación de los electrodos descritos anteriormente. Se usó una señal temporal de onda cuadrada de 7,5 Hz para invertir el contraste de cada una de las siguientes frecuencias espaciales: 15, 30 y 60 ciclos/pantalla que corresponde a 1,5, 3,0 y 6,0 cic/d a una distancia de visión de 114 cm. La frecuencia espacial se mantuvo constante durante un barrido de contraste de 8 segundos. El contraste se aumentó durante el barrido a un nivel de contraste por segundo hasta los siguientes 8 niveles de contraste: 0% (condición de descarte), 0,5 %, 1 %, 2 %, 4 %, 8 %, 16 %, 32 % y 64 %. El umbral de contraste se definió usando un procedimiento de interpolación similar como se ha descrito anteriormente. El recíproco del contraste necesario para producir un S:N = 1 se definió como la medición de sensibilidad de contraste. Esta medida determinada electrofisiológicamente se diseñó para imitar la medida conductual que es el recíproco de la cantidad mínima de contraste que necesita un niño para detectar la presencia de tiras negras y blancas.

1.3.6 Desarrollo neurológico general

Las Escalas de Bayley de Desarrollo Infantil (Psychological Corporation, ed 2., San Antonio, TX) se administraron a 12 meses EC (± 10 d) para evaluar el desarrollo cognitivo y motor (Índice de Desarrollo Mental [IDM]; Índice de Desarrollo Psicomotor [IDP]; respectivamente). Uno de aproximadamente cada 10 niños del estudio ($n=41$) se grabó en video durante la administración del Bayley y estas cintas se puntuaron centralmente (Dr R Arendt, Cleveland, OH), independientemente del ensayador del sitio. El porcentaje promedio de acuerdo con la puntuación entre los ensayadores de sitio y determinado de forma central fue 91 % (intervalo, 71-100 %) y 93 % (intervalo 73-100 %) para el IDM e IDP, respectivamente.

1.3.7 Procesamiento de información

Se administró el Ensayo de Fagan de Inteligencia Infantil (Infantest Corporation, Cleveland, OH; Fagan y Singer 1983) a los 6 y 9 meses EC (± 7 días) a niños que permanecieron con alimentación del estudio en el momento de la visita clínica. Durante un periodo de familiarización, se mostró un estímulo facial hasta que el niño acumuló una cantidad predeterminada de tiempo de mirada; durante el periodo de ensayo se mostró el estímulo de cara familiar simultáneamente con un nuevo estímulo de cara. Se registró la cantidad de tiempo de mirada empleado en cada estímulo (IBM Thinkpad) y se calculó la "preferencia de novedad", una medida de la memoria de reconocimiento visual (% de tiempo de mirada total empleado mirando al nuevo estímulo durante la fase de ensayo; promediado entre 10 ensayos). Además, se calculó el tiempo medio de duración de mirada, interpretado como una medida de la eficacia de procesamiento de información, para el periodo de familiarización dividiendo el tiempo de mirada total por el número de miradas promediadas entre 10 ensayos (Colombo, *et al.* 1988; Jacobson, *et al.* 1993).

1.3.8 Desarrollo del lenguaje

Se completó la lista de verificación de vocabulario de la versión infantil de los Inventarios de Desarrollo Comunicativo MacArthur (Fenson, *et al.* 1993), un instrumento de informe parental normalizado a los 9 meses EC (± 7 días) y 14 meses (± 10 días) EC. Esta lista de verificación de palabras se usó para proporcionar información acerca de la comprensión del vocabulario de cada niño (las palabras que el niño entiende) a los 9 y 14 meses EC y la producción de vocabulario (palabras que el niño dice) a los 14 meses EC. Se calcularon los percentiles de puntuación de normas específicas de sexo y se transformaron a puntuaciones convencionales por convención.

1.3.9 Análisis de ácidos grasos de la sangre

Si se extrajo sangre el Día de Estudio (DÍA E) 1 y en el momento del alta hospitalaria como parte de la práctica clínica rutinaria, entonces se extrajo sangre adicional para determinación de la composición de ácidos grasos del plasma y las fracciones de membrana de fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE) de glóbulos rojos (RBC). Además, se realizó un intento de obtener sangre de todos los niños del estudio que permanecieron con LH y/o fórmulas de estudio a los 4 y 12 meses EC para determinación de los niveles de ácidos grasos en sangre. Las muestras de sangre se procesaron y se congelaron a -70 °C, se enviaron en hielo seco a un laboratorio central (Analytical Research and Services, Ross Products Division) para su análisis.

1.3.10 Acontecimientos adversos graves y/o inesperados (SAE)

Un SAE se definió por el protocolo del estudio como cualquier experiencia que se produjera durante el ensayo clínico que diera como resultado muerte o tuviera peligro para la vida, fuera incapacitante, requiriera admisión al hospital o requiriera intervención para evitar deterioro permanente. Esta definición excluía visitas a la sala de emergencia sin peligro para la vida. Durante el periodo de hospitalización inicial, se instruyó a los equipos de investigación del sitio a que no incluyeran SAE (distintos de muerte infantil) que se esperarían en el historial natural del niño prematuro pero que incluyeran SAE que, en la opinión del investigador, pudieran, o estuvieran asociados con el uso del producto del estudio.

Cada SAE se revisó y se le asignó un sistema de órgano alfa numérico y puntuación de gravedad por un neonatólogo (P Pollack, MD) ciego para las grupos de alimento del estudio. Las principales categorías incluyeron: 1) muerte; 2) central pulmonar, autónoma (por ejemplo, apnea, cianosis repentina); 3) parenquimal pulmonar (por ejemplo, neumonía, VSR, asma, sibilación); 4) otras enfermedades no pulmonares graves (por ejemplo, diarrea, deshidratación, emesis, fiebre, septicemia); y 5) definitivamente no relacionado con el alimento del estudio (por ejemplo, terapia con láser para retinopatía, reparaciones de hernias).

1.4 Métodos estadísticos

Este fue un estudio de intención de tratar que incluyó todos los niños admitidos. Debido a las desviaciones del protocolo anticipadas en esta población de pacientes con alto riesgo durante el periodo de estudio de ~16 meses, se planeó un análisis de subgrupo para incluir datos hasta el último punto de recogida de datos para el que los niños se ajustaron estrictamente al protocolo de alimentación. Este subgrupo de niños se definió como los niños que permanecían en el protocolo de alimentación a EC a término y que consumían > 80 % de alimentos de leche (fórmula del estudio, LH, fórmula no de estudio, leche de vaca) como fórmula del estudio y/o LH. Por ejemplo, si un niño detuvo las alimentaciones del estudio entre las visitas programadas de 4 y 6 meses EC, los datos del estudio en la visita de 4 meses EC se incluirían en este análisis de subgrupos pero los datos recogidos en la visita de 6 meses EC, no.

Se estimó una muestra de tamaño ($n=420$) para una detección de una diferencia de desviación típica de 0,5 (DT) con potencia del 80 % y $\alpha=0,05$ en el BSID a los 12 meses EC entre los grupos de fórmula de estudio en el análisis de intención de tratar. Esta estimación incluyó un aumento en el tamaño de la muestra para compensar el desgaste infantil anticipado (20 %), un posible efecto de reducción del consumo de LH en variables de resultado (25 %) y la formación de un consumo de LHE durante el periodo neonatal temprano de referencia.

Se analizaron variables categóricas usando ensayos de Chi cuadrada o Cochran-Mantel-Haenszel y las variables continuas fueron por análisis de varianza (ANOVA) y/o análisis de covarianza (ANCOVA). Los datos obtenidos en más de un punto temporal se analizaron por análisis de mediciones repetidas. Como se define *a priori*, las comparaciones estadísticas entre los tres grupos de estudio incluyeron un bloque aleatorio para el sitio (es decir, el sitio se usó como una covariante). Además, todos los análisis con variables de resultado continuo incluyeron las covariantes de estratos de diseño (sexo y peso al nacer [750-1250 g o 1251-1800 g]) y una covariante para consumo de LH. El consumo de leche humana se definió como una variable categórica basada en la clasificación de los niños en la visita EC a término como alimentados exclusivamente con leche humana (excluidos de los análisis estadísticos), alimentados exclusivamente con fórmula, < 50 % del consumo de energía entérica en hospital de fórmula y ≥ 50 % del consumo de energía entérica en hospital de fórmula. Las covariantes preplaneadas adicionales incluyeron el tamaño para gestación para edad gestacional del crecimiento, tamaño para gestación, una medida de la calidad y cantidad de apoyo cognitivo, social y emocional disponible para el niño en el ámbito familiar (HOME Inventory; Caldwell y Bradley 1984), y una medida representativa de la inteligencia materna (componente de vocabulario del WAIS-R; Weschler 1981) para resultados de desarrollo y tabaquismo prenatal, tabaquismo en casa en el momento del alta hospitalaria, edad gestacional, tamaño para gestación, Inventario HOME, y el componente de vocabulario del WAIS-R para resultados de visión. Todos los análisis estadísticos fueron de dos colas y se estableció un nivel de significación de 0,05 y 0,10 para interacciones. En la consideración de las múltiples comparaciones realizadas por visita, estrato de peso al nacer y sexo, se usó un p valor ajustado por Bonferroni como el nivel de significación apropiado.

1.5 Resultados

1.5.1 Muestra de estudio

Trescientos setenta y seis (80 %) de los 470 niños admitidos completaron el estudio hasta 12 meses EC. Cuarenta y tres niños se clasificaron como con alimentación LHE durante el periodo neonatal temprano basándose en el consumo de LH hasta EC a término. De los 144 niños en el grupo de control, 126 (88 %) y 91 (63 %) permanecieron con alimentación del estudio a término y a 12 meses EC, respectivamente. De forma similar, de los 140 niños admitidos en el grupo de AA+ADH (pescado/fúngico), 120 (86 %) y 89 (64 %) permanecieron con alimentación del estudio a término y a 12 meses EC, y de los 143 niños admitidos en el grupo de AA+ADH (TGD de huevo/pescado), 126 (88 %) y 91 (64 %) permanecieron con alimentación del estudio a término y a 12 meses EC. A EC a término, el 35 %, 28 % y 33 % de los niños en los grupos de control, AA+ADH (pescado/fúngico) y AA+ADH (TGD de huevo/pescado), respectivamente, consumieron LH al menos una vez al día. A los 4 meses EC, solamente el 14 %, 12 % y 12 % de los niños en los grupos de control, AA+ADH (pescado/fúngico) y AA+ADH (TGD de huevo/pescado), respectivamente, consumieron LH. Diecinueve (13 %), 20 (14 %), 11 (8 %) y 1 (2 %) de los niños en los grupos de control, AA+ADH (pescado/fúngico), AA+ADH (TGD de huevo/pescado) y LHE, respectivamente, detuvieron la alimentación del estudio debido a síntomas típicamente asociados con intolerancia a la alimentación (principal razón para la detención proporcionada por el investigador del sitio). Durante el transcurso del estudio, 6, 3, 6 y 0 niños en los grupos de control, AA+ADH (pescado/fúngico), AA+ADH (TGD de huevo/pescado) y LHE murieron. Ninguna muerte del estudio se relacionó con la alimentación del estudio como se valoró por el investigador en cada sitio.

1.5.2 Demografía del niño y familiar

La demografía de línea basal del niño y familiar no difirieron entre grupos de fórmula del estudio, con la excepción de las puntuaciones en el Inventario HOME (Tablas 2 y 3), los niños de 1250 g seleccionados aleatoriamente en el grupo de control (media LS \pm ET, 36,0 \pm 0,7) tuvieron una puntuación de Inventario HOME media mayor que los del grupo AA+ADH (pescado/fúngico) (33,7 \pm 0,7, $p=0,03$). Los niños en el estrato de peso al nacer $>$ de 1250 g seleccionados aleatoriamente en los grupos de control (media LS ET, 36,2 \pm 0,6; $p=0,006$) y AA+ADH (pescado/fúngico) (36,3 \pm 0,6, $p=0,0004$) tuvieron mayores puntuaciones de Inventario HOME medias que los niños en el grupo de AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (33,6 \pm 0,7). Se observó una diferencia marginalmente estadísticamente significativa en estado de nacimiento múltiple (nacimiento gemelar frente a sencillo) entre los tres grupos de fórmula del estudio ($p=0,054$). Aproximadamente 17 %, 20 % y 28 % de los sujetos en el grupo de control, AA+ADH (pescado/fúngico) y AA+ADH (TGD de huevo/pescado), respectivamente, fueron gemelos.

Tabla 2. Características neonatales y perinatales de la población de estudio total de niños prematuros – intención de tratar

Características	Control	AA+ADH (Pescado/fúngico)	AA+ADH (TGD de huevo/pescado)	LHE*
Peso al nacer[†], g		1305 \pm 293	1309 \pm 286	1275 \pm 312
Nº de Sujetos	142	138	140	43
Edad Gestacional al Nacer[†], semanas	29,6 \pm 1,9	29,8 \pm 2,1	29,7 \pm 2,0	29,7 \pm 2,1
Nº de Sujetos	143	138	141	43
Tamaño al Nacer[□], n				
SGA	9	14	14	7
AGA	133	124	126	36
Desconocido			1	
Sexo[□], n				
Hombre	77	77	77	20
Mujer	66	61	64	23
Estado de Nacimiento Múltiple[□], n				
Sencillo	119	110	101	39
Gemelar	24	28	40	4
Puntuación de Apgar[□]	8,0 \pm 1,4	8,0 \pm 1,4	8,0 \pm 1,4	8,3 \pm 1,2
Nº de Sujetos	143	136	141	43
Etnia, n				
<u>Estados Unidos[□]</u>				
Caucásica	61	59	62	32
Africana	22	19	28	2
Hispana/Latina			3	
Otro	16	17	7	0
<u>Reino Unido[□]</u>				
Caucásica	20	21	23	9
Africana	0	1	0	
Otro			2	
<u>Chile[□]</u>				
Hispana/Latina	16	19	16	--
Día del Estudio 1				
<u>Peso[†], g</u>	1207 \pm 276	1208 \pm 274	1219 \pm 279	1198 \pm 326
Nº de Sujetos	142	138	140	43
<u>Longitud[†], cm</u>	38,6 \pm 3,1	38,9 \pm 3,1	39,1 \pm 2,8	38,6 \pm 3,1
Nº de Sujetos	131	130	132	41
<u>Circunferencia craneal[†], cm</u>	27,2 \pm 2,0	27,3 \pm 2,0	27,4 \pm 1,9	27,0 \pm 2,2
Nº de Sujetos	133	129	135	40

Características	Control	AA+ADH (Pescado/fúngico)	AA+ADH (TGD de huevo/pescado)	LHE*
Edad Postnatal [†] , d	5,5 ± 3,9	5,0 ± 2,9	4,6 ± 2,8	5,5 ± 2,5
Nº de Sujetos	142	138	140	43

Los valores son la media ± DT a no ser que se indique de otro modo.

* Alimentados con leche humana exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Solamente grupo de referencia, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

[†] Las diferencias entre los grupos de fórmula se evaluaron por ANCOVA que controla el sitio, sexo, estrato de peso al nacer, alimentación*sexo y alimentación*estrato de peso al nacer. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

[‡] Las diferencias entre grupos de fórmula se evaluaron usando análisis de Chi Cuadrado que controlan el sitio.

Tabla 3. Características familiares: análisis de intención de tratar

Características	Control	AA+ADH (Pescado/fúngico)	AA+ADH (TDH/Pescado)	LHE*
Edad Materna [†] , años	27,2 ± 6,3 (143)	27,0 ± 6,3 (138)	27,0 ± 7,0 (141)	29,7 ± 5,1 (43)
Educación Materna [†]				
Estados Unidos, años	12,9 ± 2,4 (99)	13,1 ± 2,4 (96)	12,8 ± 2,3 (99)	15,1 ± 2,0 (34)
Chile, años	10,5 ± 1,6 (16)	10,1 ± 2,2 (19)	8,8 ± 3,1 (16)	NA
Reino Unido				
Ninguna	9	4	6	1
< Nivel 3□	5	6	2	0
> Nivel 3§	6	9	12	2
Niveles A	1	0	1	2
Grado +	2	3	4	4
Tabaquismo Materno Durante el Embarazo [§] , n (%)				
Sí	40(28,0)	35 (25,4)	41 (29,3)	2 (4,7)
No	103 (72,0)	103 (74,6)	99(70,7)	41(95,3)
Tabaquismo Postnatal en el Hogar, [§] n (%)				
Sí	37 (27,4)	39 (29,1)	44 (32,1)	4(9,5)
No	98(72,6)	95 (70,9)	93 (67,9)	38(90,5)
Cuidado Prenatal [¶] , n (%)				
1er trimestre	119(83,8)	115(83,9)	114(80,9)	42 (97,7)
2º trimestre	19 (13,4)	17 (12,4)	20 (14,2)	0 (0,0)
3er trimestre o ninguno	4 (2,8)	5(3,6)	7(5,0)	1 (2,3)
Puntuación de Inventario HOME ^{†**}	36,3 ± 5,3 (123)	35,3 ± 5,5 (127)	34,8 ± 6,5 (109)	39,4 ± 3,4 (40)
WAIS-R Materno	39,3 ± 12,4 (119)	37,5 ± 15,0 (126)	37,0 ± 15,2 (108)	53,2 ± 8,9 (40)
Puntuación de Vocabulario sin Procesar [†]				

Los valores son la media ± DT (número de sujetos) a no ser que se indique de otro modo.

* Alimentado con Leche Humana Exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Solamente grupo de referencia, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

[†] Las diferencias entre grupos de fórmula del estudio se evaluaron por ANCOVA que controla el sitio, sexo, estrato de peso al nacer, alimentación*sexo y alimentación*estrato de peso al nacer.

[‡] Equivalentes de educación en Reino Unido: < 3 Certificado de Educación Secundaria (CSE) o Certificado General de Educación Secundaria (GCSE) por debajo del grado C o

[§] Equivalentes de educación en el Reino Unido: > 3 CSE o cualquier nivel O o GCSE grado A-C.

[¶] Estos datos se analizaron usando análisis de Chi Cuadrado que controlan el sitio.

** Se descubrió una interacción de alimentación*peso al nacer estadísticamente significativa (p=0,0043) para la Puntuación de Inventario HOME

Los niños ≤ 1250 g de estrato de peso al nacer seleccionados aleatoriamente en los grupos de control (Media LS ± ET, 36,0 ± 0,7) tuvieron mayores puntuaciones de Inventario HOME que los seleccionados aleatoriamente en el grupo AA+ADH (pescado/fúngico) (Media LS ± ET, 33,7 ± 0,7; p=0,0285).

Los niños > 1250 g de estrato de peso al nacer seleccionados aleatoriamente en el grupo de control (Media LS ± ET 36,2 ± 0,6) tuvieron mayores Puntuaciones de Inventario HOME que los seleccionados aleatoriamente en AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (33,6 ± 0,7, p=0,0059). Los niños > 1250 g de estrato de peso al nacer seleccionados aleatoriamente en AA+ADH (pescado/fúngico) (36,3 ± 0,6) tuvieron mayores Puntuaciones de Inventario HOME que los seleccionados aleatoriamente en AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (33,6 ± 0,7, p=0,0039).

1.5.3 Crecimiento

5 En la población de intención de tratar, se descubrieron pocas diferencias, y estas fueron irregulares, en los aumentos de peso, longitud o circunferencia craneal desde DÍA E 1 hasta término, 4 y 12 meses EC o en análisis de medidas repetidos de mediciones de peso absoluto, longitud y circunferencia craneal en DÍA E 1, a término, 2, 4, 6, 9 y 12 meses EC (véase Tabla 4a y 4b y Figura 1). El aumento de longitud medio de DÍA E 1 a 12 meses EC fue mayor entre niños de control (Media LS ± ET, 5,95 ± 0,07 mm/semana) frente a AA+ADH (pescado/fúngico) (5,67 ± 0,07 mm/semana) ≤ 1250 g (p=0,008). El aumento de circunferencia craneal medio desde DÍA E 1 a EC a término fue mayor entre niños de control frente a AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (9,1 ± 0,2 frente a 8,4 ± 0,2 mm/semana, p=0,005) y entre niños > 1250 g AA+ADH (pescado/fúngico) frente a AA+ADH (TGD de huevo/pescado) desde el DÍA E 1 a EC a término (9,0 frente a 8,4 mm/semana, respectivamente; p=0,004). Por el contrario, los análisis de mediciones repetidas de antropometría entre todas las visitas del estudio demostraron que los pesos y longitudes de niños con AA+ADH (TGD de huevo/pescado) fueron mayores que las de niños de control a EC a término (2906 ± 48 g frente a 2757 ± 50 g, p=0,03; 47,1 ± 0,2 cm frente a 46,5 ± 0,02 cm, p=0,01, respectivamente). Estas diferencias desaparecieron cuando el análisis de la población de intención de tratar excluyó a los niños que consumían > 50 % de la energía en el hospital inicial de LH.

20 De forma similar, se descubrieron pocas diferencias y estas fueron irregulares en los aumentos antropométricos y análisis de medidas repetidas de mediciones antropométricas entre visitas del estudio en el análisis de subgrupos (los que seguían el protocolo de alimentación estricto). El aumento de longitud medio de DÍA E 1 a 4 meses EC fue mayor entre el control (Media LS ± ET, 8,68 ± 0,14 mm/semana) frente a AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (8,33 ± 0,14 mm/semana, p=0,04). Los aumentos de circunferencia craneal medios de DÍA E 1 a EC a término fueron mayores entre las niñas de control frente a AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (9,24 ± 0,2 mm/semana frente a 8,4 ± 0,2 mm/semana, p=0,003).

30 La Tabla 4b muestra los datos en forma de sumario con una indicación más clara de qué parámetros fueron estadísticamente diferentes en qué momentos y entre qué grupos. La Tabla 4b muestra cómo pocos de los parámetros de crecimiento fueron significativos. Con la excepción de la longitud y el peso en el punto temporal medido más temprano (EC a término) en el análisis de intención de tratar, ninguna de las medidas absolutas fueron estadísticamente diferentes. En algunos casos, la fórmula de control proporcionó mayores aumentos que las fórmulas del estudio; pero esto puede explicarse por el hecho de que el grupo de control, aunque es aleatorio, tiene menores pesos en promedio a término. En general, los bebés más pequeños crecen a velocidades más rápidas que los bebés más grandes.

35

Tabla 4a. Aumentos de peso, longitud y circunferencia craneal: análisis de intención de tratar

Características	Control	AA+ADH (Pescado/fúngico)	AA+ADH (TDH/Pescado)	LHE*
Aumento de Peso, g/kg/d				
DíaE 1 a EC a Término	13,4 ± 1,8 (135)	13,7 ± 1,9 (134)	13,3 ± 1,8 (135)	12,0 ± 1,8 (42)
DíaE 1 a 4 Meses EC	7,3 ± 0,5 (127)	7,3 ± 0,5 (126)	7,2 ± 0,5 (121)	7,1 ± 0,7 (41)
DíaE 1 a 12 Meses EC	3,6 ± 0,2 (119)	3,6 ± 0,2 (123)	3,5 ± 0,2 (105)	3,5 ± 0,2 (41)
Aumento de Longitud, mm/semana				
DíaE 1 a EC a Término	9,8 ± 2,1 (135)	9,8 ± 2,1 (124)	9,6 ± 1,9 (125)	9,1 ± 2,1 (40)
DíaE 1 a 4 Meses EC	8,4 ± 1,0 (120)	8,3 ± 0,9 (123)	8,1 ± 0,9 (113)	7,9 ± 1,1 (39)
DíaE 1 a 12 Meses EC†	5,7 ± 0,5 (111)	5,6 ± 0,5 (118)	5,6 ± 0,4 (100)	5,7 ± 0,5 (39)
Aumento de Circunferencia Craneal, mm/semana				
DíaE 1 a EC a Término§	8,7 ± 1,4 (126)	8,4 ± 1,5 (122)	8,4 ± 1,4 (131)	8,0 ± 1,1 (39)
DíaE 1 a 4 Meses EC	5,5 ± 0,7 (121)	5,5 ± 0,6 (121)	5,5 ± 0,6 (116)	5,5 ± 0,5 (38)
DíaE 1 a 12 Meses EC	3,1 ± 0,3 (112)	3,1 ± 0,3 (118)	3,1 ± 0,3 (103)	3,1 ± 0,3 (38)

Los valores son la media ± DT (número de sujetos). Las diferencias entre grupos de fórmulas del estudio se evaluaron por ANCOVA que controla el sitio, sexo, estrato de peso al nacer, tamaño para la gestación, consumo de leche humana, alimentación*sexo y alimentación*estrato de peso al nacer.

* Alimentados con Leche Humana Exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Solamente grupo de referencia, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

† Los aumentos de longitud fueron mayores entre niños \leq 1250 g en el grupo de control frente a AA+ADH (pescado/fúngico) (media LS 5,74 frente a 5,67 mm/semana, $p=0,0078$).

‡ Los aumentos de circunferencia craneal fueron mayores entre niñas en el grupo de control frente a AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (media LS 9,1 frente a 8,4 mm/semana, $p=0,0039$).

§ Los aumentos de circunferencia craneal fueron mayores entre niños $>$ 1250 g en el grupo AA+ADH (pescado/fúngico) frente a AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (media LS 9,0 frente a 8,4 mm/semana, $p=0,0029$).

Tabla 4b. Sumario de los resultados antropométricos

	EC a Término	2-Meses EC	4-Meses EC	6-Meses EC	9-Meses EC	12-Meses EC	Interacción
Análisis de Intención de Tratar							
<u>Aumentos*</u>							
Peso	NS	--	NS	--	--	NS	^a \leq 1250 g de peso al nacer solamente ^b Solamente niñas ^c $>$ 1250 g de peso al nacer solamente
Longitud	NS	--	NS	--	--	C [†] > FF ^{‡a}	
Circunferencia	C > EF ^{§b}	--	NS	--	--	NS	
Craneal	FF > EF ^c	--	NS	--	--	NS	
<u>Medidas Absolutas</u>							
Peso	EF>C	NS	NS	NS	NS	NS	
Longitud	EF>C	NS	NS	NS	NS	NS	
Circunferencia Craneal	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
Análisis Evaluable							
<u>Aumentos*</u>							
Peso	NS	--	NS	--	--	NS	^d Solamente niñas
Longitud	NS	--	C > EF	--	--	NS	
Circunferencia Craneal	C > EF ^d	--	NS	--	--	NS	
<u>Medidas Absolutas</u>							
Peso	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
Longitud	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
Análisis Evaluable							
Circunferencia Craneal	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

* Los aumentos fueron del DÍA E 1 a EC a Término, DÍA E 1 a 4 meses EC y DÍA E 1 a 12 meses EC.

† C, fórmula de control

‡ FF, fórmula AA+ADH (pescado/fúngico)

§ EF, fórmula AA+ADH (TGD de huevo)/pescado

NS, no significativo.

1.5.4 Tolerancia a alimentación en hospital y problemas clínicos

- 5 En los análisis tanto de intención de tratar como de subgrupo, no hubo diferencias entre los grupos de fórmulas del estudio con respecto al porcentaje de niños que retuvieron las alimentaciones entéricas durante al menos un día, el porcentaje de niños que tuvieron alimentaciones retenidas debido a residuos gástricos, y el número de días hasta alcanzar la alimentación entérica completa (Tabla 5). De forma similar, no hubo diferencias entre grupos de fórmulas del estudio en la incidencia de enfermedad pulmonar crónica o en casos sospechados o confirmados de infección sistémica o enterocolitis necrotizante.
- 10

Tabla 5. Tolerancia a alimentación en hospital y problemas clínicos: análisis de intención de tratar

	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (EDT/Pescado)	LHE*
Número de Sujetos	142	138	140	43
Alimentaciones retenidas durante al menos 1 día, % de niños	29	31	31	26
Alimentaciones retenidas debido a residuos gástricos, % de niños	20	17	16	14
Días hasta alcanzar las alimentaciones entéricas completas (100 kcal/kg/d)	12,8 ± 14,6	12,8 ± 12,1	12,5 ± 14,1	15,8 ± 18,9*
Caso sospechado de NEC, % de niños	24	23	26	21
Casos confirmados de NEC, % de niños	4	4	3	0
Infección sistémica sospechada, % de niños	33	35	39	33
Casos confirmados de infección sistémica, % de niños	14	15	15	7
Enfermedad pulmonar crónica, % de niños	25	25	22	28

Las diferencias entre grupos de fórmula del estudio se evaluaron por estadística de análisis de Cochran-Mantel-Haenzel o supervivientes (días hasta alimentación entérica completa solamente) que controlan el sitio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

* Alimentación con Leche Humana Exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Grupo de referencia solamente, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

1.5.5 Agudeza conductual y VEP

- 5 Los resultados de agudeza conductual y VEP (ci/d) se transformaron logarítmicamente de acuerdo con la convención (Weistheimer 1987) antes del análisis y los valores de media geométrica (ci/d) se presentan con DT en octavos (Figuras 2 y 3). Independientemente de si el análisis se realizó en la población de intención de tratar o en los que seguían el protocolo de alimentación estricto, no se encontró ningún efecto significativo de alimentación del estudio en la agudeza conductual. Por el contrario, a los 6 meses TA, la agudeza VEP media de los niños seleccionados aleatoriamente en AA+ADH (Pescado/Fúngico) (media LS + ET, 11,4 ± 0,1 ci/d) o AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (12,5 ± 0,1 ci/d) fue mayor que para niños seleccionados aleatoriamente para la fórmula de control (8,4 ± 0,1 ci/d, p=0,01). Además, la agudeza de VEP medida de los niños seleccionados aleatoriamente para las fórmulas complementadas con AA+ADH aumentó entre 4 y 6 meses EC pero la agudeza de VEP media de los niños seleccionados aleatoriamente para el grupo de control no. En el análisis de subgrupo, la agudeza de VEP media de los niños alimentados con AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (Media LS ± ET, 12,9 ± 0,1 ci/d) fue mayor que los niños alimentados con control (8,5 ± 0,1 ci/d) a los 6 meses EC (p=0,002). Hubo una diferencia significativa marginal que muestra agudeza visual mayor entre niños alimentados con AA+ADH (pescado/fúngico) (10,6 ± 0,1 ci/d) que los niños de control con 6 meses de edad EC (p=0,08).
- 10
- 15
- 20 Aunque no se realizó una comparación estadística, la agudeza de VEP a los 6 meses EC de los niños que recibieron fórmula del estudio durante el periodo neonatal temprano fue menor que la de los niños alimentados con LHE. Esta diferencia fue más notable entre niños alimentados con la fórmula de control no complementada.
- 25 Los resultados de este ensayo sugieren resultados de complementación de LCP en desarrollo visual mejorado de niños prematuros a los 6 meses EC como se evalúa por agudeza de VEP. A los 6 meses EC, la agudeza de VEP media de los niños seleccionados aleatoriamente para AA+ADH (pescado/fúngico) o AA+ADH (TGD de huevo/pescado) fue de aproximadamente 0,34 y 0,42 octavos mayor que la de niños seleccionados aleatoriamente para la fórmula de control. Aunque hay distinciones entre la agudeza de VEP y de reconocimiento (Mayer y Dobson 1997), la magnitud de esta diferencia corresponde a aproximadamente una línea en un diagrama ocular de Snellen
- 30 (es decir, 20/70 frente a 20/50). A diferencia de los niños complementados con AA+ADH cuya agudeza de VEP mejoró entre 4 y 6 meses EC, la agudeza de VEP de los niños seleccionados aleatoriamente para la fórmula de control no difirió, lo que sugiere una deceleración en el desarrollo del sistema visual en este último grupo de niños.
- 35 Estos resultados son coherentes con la mayor agudeza de VEP (1 y 4 meses EC) y la morfología de latencia de onda de VEP madura (3 meses EC) entre los niños prematuros complementados con ADH solamente como se indica en Birch, *et al.* (1992) y Faldella, *et al.* (1996). De forma similar, Carlson *et al.* (1993a, 1996a) demostraron agudeza visual mejorada por el método de tarjeta de Teller entre niños prematuros complementados solamente con ADH a partir de una fuente de aceite de pescado alto en AEP a los 2 y 4 meses EC y a los 2 meses EC entre niños prematuros sanos alimentados solamente con ADH a partir de una fuente de aceite de pescado bajo en AEP. En el

presente estudio, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la agudeza visual (por el método de Teller) entre los grupos de estudio usando comparaciones previamente planeadas; sin embargo, un análisis post-hoc de los resultados de agudeza de Teller en cada momento de medición (2, 4 y 6 meses EC) reveló que a los 4 meses EC los niños alimentados con AA+ADH a partir de la fuente de TGD de huevo/pescado (Media LS \pm ET, 1,8 \pm 0,1 ci/d) tuvieron puntuaciones de agudeza media estadísticamente mayores que los niños de 4 meses EC a los que se alimentó con la fórmula de control (1,7 \pm 0,1 ci/d, $p = 0,0323$). La diferencia absoluta, sin embargo, no es notable. Además del beneficio del desarrollo visual fuertemente implicado por la uniformidad general de los resultados del estudio anteriormente mencionados, hay un volumen creciente de bibliografía que sugiere una correlación entre los resultados de evaluación visual temprana y posterior deterioro motor y cognitivo (Hakkinen, *et al.* 1987; Iinuma, *et al.* 1997; van Hof-van Duin, *et al.* 1998; Vohr *et al.* 1992). Estas correlaciones sugieren que el beneficio temprano de la complementación con LCP al sistema visual podría tener consecuencias a largo plazo; sin embargo, esta hipótesis aún no se ha ensayado.

Los cuatro ensayos clínicos revisados por pares publicados previamente mejoraron el desarrollo visual de forma secundaria a la complementación con ADH (sin AA), también presentaron crecimiento más lento en niños prematuros o no tenían suficiente potencia para detectar diferencias significativas en los resultados de crecimiento (Birch, *et al.* 1992; Carlson, *et al.* 1993a; Carlson, *et al.* 1996b; Faldella, *et al.* 1996; Uauy, *et al.* 1994). Carlson *et al.* (1993b) plantearon la hipótesis de que a pesar de consumos adecuados del ácido graso esencial, ácido linoleico, los niños prematuros pueden necesitar una fuente dietética de AA para un crecimiento óptimo. Por el contrario, Woltzil, *et al.* (1998) indicaron que los niveles en sangre de AA entre niños prematuros se asociaban con medidas antropométricas a los 10 días de edad pero desaparecían a los 42 días de edad, lo que condujo a este grupo a concluir que el estado de AA se relacionaba con el crecimiento intrauterino pero no postnatal. Los resultados del estudio descrito, en el presente documento, sugieren que prolongar la alimentación con fórmulas enriquecidas con nutrientes en combinación con complementación con AA+ADH hasta al menos 6 meses EC, y preferentemente hasta 12 meses EC, proporciona un mecanismo por el que puede actualizarse el desarrollo visual potenciado sin la consecuencia indeseable del crecimiento negativo. En el presente estudio, se encontraron pocas diferencias, y estas fueron irregulares, entre las > 200 comparaciones estadísticas en aumento de peso, longitud o circunferencia craneal del DÍA E 1 hasta el término, hasta 4 meses y hasta 12 meses EC o en análisis de mediciones repetidas de mediciones de peso absoluto, longitud y circunferencia craneal el DÍA E 1, a término, 2, 4, 6, 9 y 12 meses EC (Figura 1, Tabla 4a y 4b).

1.5.6 Sensibilidad de contraste de VEP

Como se resume en las Tablas 6 y 7 las mediciones de sensibilidad de contraste de VEP medias de los niños no difirieron del grupo de fórmula del estudio usando comparaciones estadísticas preplaneadas. Sin embargo, el análisis post-hoc de la sensibilidad de contraste de 1,5 cic/d a los 6 meses EC reveló que los niños seleccionados aleatoriamente para los grupos de fórmula de estudio AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (Media LS \pm ET, 12,0 \pm 0,1, $p=0,0084$) y AA+ADH (pescado/fúngico) (10,0 \pm 0,10, $p= 0,0396$) tuvieron mayores mediciones de sensibilidad de contraste medias que los niños seleccionados aleatoriamente para el grupo de control (5,9 \pm 0,1). Solo la diferencia entre AA+ADH (TGD de huevo/pescado) y de control permaneció estadísticamente significativa usando un nivel α ajustado por Bonferroni de 0,0167.

Tabla 6. Sensibilidad de contraste a los 4 meses EC usando un barrido de contraste (1,5, 3,0 y 6,0 cic/d)-intención de tratar

Barrido de Contraste	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (TGD de huevo/pescado)	LHE [†]
1,5 cic/d				
Media \pm ETM (DT)	8,1 \pm 0,1 (0,5)	7,9 \pm 0,1 (0,5)	9,6 \pm 0,1 (0,6)	10,1 \pm 0,1 (0,4)
Mediana	8,9	8,7	16,5	12,7
1er, 3er cuartil	3,6, 19,8	4,2, 15,7	2,8, 29,3	6,6, 19,1
N	39	45	31	
3,0 cic/d				
Media \pm ETM (DT)	5,0 \pm 0,1 (0,5)	4,3 \pm 0,1 (0,4)	6,3 \pm 0,1 (0,5)	5,6 \pm 0,1 (0,4)
Mediana	6,2	3,8	6,2	6,3
1er, 3er cuartil	2,1, 11,8	2,2, 8,2	2,8, 17,1	2,7, 9,9
N	38	44	30	
6,0 cic/d				
Media \pm ETM (DT)	1,8 \pm 0,1 (0,4)	1,5 \pm 0,0 (0,3)	1,6 \pm 0,1 (0,3)	1,5 \pm 0,1 (0,3)
Mediana	1,0	1,0	1,0	1,0
1er, 3er cuartil	1,0, 3,2	1,0, 2,0	1,0, 1,7	1,0, 2,2
n	37	42	32	

* La sensibilidad de contraste es el recíproco del umbral de contraste. Estos datos se transformaron por log10 antes del análisis estadístico. Los valores de la media, mediana y 1er y 3er cuartiles son el antilogaritmo (media geométrica). ETM y DT son en unidades logarítmicas. Las diferencias se determinaron usando ANCOVA que controla el sitio, sexo, estrato de peso al nacer, historial materno de tabaquismo durante el embarazo, tabaquismo postnatal en el hogar, educación materna y consumo de leche humana. No se descubrieron efectos estadísticamente significativos de alimentación o alimentación*visita.

† Alimentación con leche humana exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Grupo de referencia solamente, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

Tabla 7. Sensibilidad de contraste a los 6 meses EC usando un barrido de contraste (1,5, 3,0 y 6,0 cic/d)-intención de tratar

Barrido de Contraste	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (TGD de huevo/pescado)	LHE [†]
1,5 cic/d				
Media ± ETM (DT)	5,8 ± 0,1 (0,6)	11,1 ± 0,1 (0,4)	12,7 ± 0,1 (0,4)	10,1 ± 0,1 (0,6)
Mediana	7,1	11,8	14,7	16,5
1er, 3er cuartil	1,6, 18,2	7,0,21,4	8,1, 19,5	7,1, 24,6
n	39	47	33	
3,0 cic/d				
Media ± ETM (DT)	4,9 ± 0,1 (0,5)	6,9 ± 0,1 (0,4)	7,6 ± 0,1 (0,4)	8,7 ± 0,1 (0,5)
Mediana	4,5	6,6	8,4	10,5
1er, 3er cuartil	1,9, 12,6	3,7,14,4	3,9, 16,4	3,2, 25,8
n	39	46	32	
6,0 cic/d				
Media ± ETM (DT)	2,4 ± 0,1 (0,4)	2,8 ± 0,1 (0,4)	3,6 ± 0,1 (0,5)	3,1 ± 0,1 (0,4)
Mediana	2,2	2,6	4,7	2,9
1er, 3er cuartil	1,0, 5,5	1,0,4,8	1,0, 7,6	1,0, 7,0
n	39	45	33	

* La sensibilidad de contraste es el recíproco del umbral de contraste. Estos datos se transformaron por log10 antes del análisis estadístico. Los valores de la media, mediana y 1er y 3er cuartiles son el antilogaritmo (media geométrica). ETM y DT son en unidades logarítmicas. Las diferencias se determinaron usando ANCOVA que controla el sitio, sexo, estrato de peso al nacer, historial materno de tabaquismo durante el embarazo, tabaquismo postnatal en el hogar, educación materna y consumo de leche humana. No se descubrieron efectos estadísticamente significativos de alimentación o alimentación*visita.

† Alimentación con leche humana exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Grupo de referencia solamente, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

5 1.5.7 Nivel de desarrollo general

Independientemente de si el análisis estadístico de los datos incluyó a todos los niños seleccionados aleatoriamente en el estudio o incluyó solamente a los niños que se ajustaban estrictamente al protocolo de alimentación, no se encontraron diferencias entre los grupos de fórmula del estudio en las puntuaciones de IDM (Tabla 8). Por el contrario, se observó una interacción estadísticamente significativa de alimentación*peso al nacer para puntuaciones de IDP ($p=0,005$). La puntuación de IDP media de los niños ≤ 1250 g que siguieron estrictamente el protocolo de alimentación fue mayor entre niños a los que se alimentó con AA+ADH (pescado/fúngico) (media LS + ET, 90,6 + 4,4) frente a control (81,8 + 4,3; $p=0,007$). El IDP de Bayley mide capacidades motoras generales tales como sentarse, andar, estar de pie, subir una escalera y habilidades motoras finas de manos y dedos. Hasta donde conocen los inventores, este es el primer ensayo aleatorio posible que demuestra una mejora en las puntuaciones de desarrollo motor con complementación de AA+ADH.

El porcentaje de sujetos en las poblaciones de intención de tratar o subgrupo que tenían rendimiento mental o motor significativamente retardado no difirieron estadísticamente por grupo de fórmula de estudio. Por ejemplo, en la población de intención de tratar, aproximadamente el 4 y el 12 % de los niños tenían puntuaciones de IDM e IDP, respectivamente, < 70 , un nivel descrito como indicativo de rendimiento significativamente retardado.

1.5.8 Lenguaje

La adquisición de vocabulario no difirió entre los tres grupos de fórmula de estudio a los 9 o 14 meses EC ni en el análisis de intención de tratar ni en el de subgrupos (Tabla 8). De forma similar, no hubo ninguna diferencia de alimentación de estudio en la producción de vocabulario a los 14 meses EC. En estos análisis, se incluyeron niños

de habla hispana y los gemelos calculando normas específicas de percentil y sexo y conversiones de puntuación convencionales validadas usando niños de habla inglesa (Fenson, *et al.* 1993). Jackson-Maldonado (1993) indicó que las trayectorias de adquisición del lenguaje son similares para niños de habla hispana e inglesa, justificando este enfoque. No obstante, cuando los niños de habla hispana y los gemelos se retiraron del análisis de intención de tratar, los niños seleccionados aleatoriamente para el grupo de control (media LS ± ET, 94,1 ± 2,9) generalmente tenían una adquisición de vocabulario menor que los niños seleccionados aleatoriamente para el grupo de AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (102,2 ± 2,8, p=0,0145) o AA+ADH (pescado/fúngico) (100,6 ± 2,9, p=0,0422). De forma similar en el análisis evaluable, los niños a los que se alimentó con control (media LS ± ET, 95,3 ± 3,3) tuvieron menor adquisición de vocabulario que los niños a los que se alimentó con AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (105,4 ± 3,4, p=0,0118).

Tabla 8. Desarrollo cognitivo, motor y del lenguaje: análisis de intención de tratar*

Características	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (EDT/Pescado)	LHE [†]
Escalas de Bayley de Desarrollo Infantil a los 12 Meses EC				
Índice de Desarrollo Mental (IDM)	92,2 ± 12,2 (119)	92,8 ± 11,2 (123)	93,4 ± 13,0 (105)	93,1 ± 14,5 (41)
Índice de Desarrollo Psicomotor (IDP)	86,3 ± 16,2 (118)	87,2 ± 14,2 (123)	85,9 ± 14,4 (105)	86,8 ± 15,2 (41)
Inventarios de Desarrollo Comunicativo de MacArthur				
Puntuaciones de Adquisición de Vocabulario				
9 Meses	103,7 ± 21,9 (122)	104,2 ± 9,1 (122)	101,7 ± 19,4 (102)	96,2 ± 17,6 (39)
14 Meses	99,9 ± 17,1 (98)	101,6 ± 16,4 (101)	101,2 ± 18,8 (93)	97,0 ± 14,5 (38)
Puntuaciones de Producción de Vocabulario				
14 Meses	97,8 ± 18,4 (98)	96,6 ± 17,2 (102)	98,3 ± 18,1 (93)	96,6 ± 18,9 (38)

Los valores son la media ± DT (número de sujetos).

* Se determinaron diferencias entre grupos de fórmula usando ANCOVA que controla: sitio, sexo, estrato de peso al nacer, alimentación*sexo, alimentación*estrato de peso al nacer, HOME, puntuación de vocabulario sin procesar WAIS-R materno, edad gestacional, tamaño para la gestación, consumo de leche humana, orden de nacimiento y el primer idioma de la madre biológica. Se excluyeron puntuaciones IDM e IDP < 50 de los análisis estadísticos pero se incluyen en los datos presentados en esta Tabla. No se encontraron efectos significativos de la alimentación de fórmula del estudio, alimentación*sexo o alimentación*estrato de peso al nacer.

† Alimentado con Leche Humana Exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Grupo de referencia solamente, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

1.5.9 Procesamiento de la información

Se observó una interacción alimentación*visita estadísticamente significativa tanto para la preferencia de novedad (p=0,10) como para la duración de mirada promedio durante el periodo de familiarización (p=0,07), aunque la comparación por pares de grupos de alimentación del estudio en cada punto temporal produjo diferencias con respecto a preferencia de novedad solamente (Tabla 9). La preferencia de novedad media de niños alimentados con AA+ADH (TGD de huevo/pescado) (medias LS ± ET, 60,0 ± 0,8) fue significativamente mayor que la de los niños alimentados con control (57,5 ± 0,8; p=0,02) y AA+ADH (pescado/fúngico) (56,6 ± 0,8, p=0,003) a los 6 meses EC. La diferencia entre AA+ADH (pescado/fúngico) y AA+ADH (TGD de huevo/pescado) permaneció estadísticamente significativa usando un nivel alfa ajustado por Bonferroni de 0,0083.

Tabla 9. Ensayo de Fagan de la Inteligencia Infantil – Media ± ETM (DT)- Evaluable*

	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (TGD de huevo/pescado)	LHE [†]
% de Preferencia de Novedad				
6 Meses	57,5 ± 0,8 (7,4) ^{a,b}	57,0 ± 0,8 (7,5) ^a	59,4 ± 0,8 (7,7) ^b	57,9 ± 1,1 (7,0)
9 Meses	58,4 ± 0,8 (7,2)	59,0 ± 0,8 (7,4)	58,9 ± 0,8 (7,2)	58,9 ± 1,3 (7,7)

Tabla 9. Ensayo de Fagan de la Inteligencia Infantil – Media ± ETM (DT)- Evaluable*				
	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (TGD de huevo/pescado)	LHE [†]
Duración de Mirada Promedio Durante la Fase de Familiarización, segundos				
6 Meses	2,2 ± 0,1 (0,8)	2,2 ± 0,1 (1,0)	2,1 ± 0,1 (0,8)	2,2 ± 0,1 (0,8)
9 Meses	1,4 ± 0,0 (0,4)	1,4 ± 0,0 (0,4)	1,5 ± 0,1 (0,5)	1,6 ± 0,1 (0,4)
Duración de Mirada Promedio Durante la Fase de Ensayo, segundos				
6 Meses	1,9 ± 0,1 (0,6)	1,8 ± 0,1 (0,7)	1,9 ± 0,1 (0,6)	1,9 ± 0,1 (0,6)
9 Meses	1,3 ± 0,0 (0,3)	1,3 ± 0,0 (0,4)	1,3 ± 0,0 (0,4)	1,3 ± 0,0 (0,3)
Duración de Mirada Promedio Durante un Periodo de Tiempo de Familiarización Abreviado, segundos[□]				
6 Meses	1,7 ± 0,1 (0,7)	1,8 ± 0,1 (1,4)	1,6 ± 0,1 (0,8)	1,8 ± 0,1 (0,8)
9 Meses	1,3 ± 0,0 (0,4)	1,4 ± 0,1 (0,6)	1,5 ± 0,1 (0,7)	1,4 ± 0,1 (0,4)
* Las diferencias entre grupos de fórmula del estudio se determinaron usando PROC MIXED para análisis de mediciones repetidas que controlan el sitio, sexo, visita, estrato de peso al nacer, HOME, WAIS-R, edad gestacional, tamaño para la gestación, paridad, edad materna, consumo de leche humana, alimentación*visita, alimentación*sexo y alimentación*estrato de peso al nacer. Se observó una interacción de alimento*visita estadísticamente significativa para preferencia de novedad (p=0,0992), duración de mirada promedio durante un periodo de tiempo de familiarización abreviado (p=0,0712). Los superíndices diferentes en cada fila indican diferencias estadísticamente significativas usando un nivel α ajustado por Bonferroni de 0,0083.				
[†] Alimentados con Leche Humana Exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Grupo de referencia solamente, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.				
[□] Durante los primeros 10 (6 meses EC) o 6 (9 meses EC) Segundos de los Primeros Tres Periodos de Familiarización.				

1.5.10 Análisis de ácidos grasos en sangre

- 5 Como se esperaba, el Día E 1, los grupos de fórmula del estudio no difirieron significativamente con respecto a la concentración (g/100 g) de AA y ADH en el plasma o en las fracciones de PE o PC de RBC (no mostrado). Por el contrario, los niños que consumían las fórmulas de pescado/fúngico o TGD de huevo/pescado tuvieron en general mayores concentraciones en sangre de AA y ADH en su sangre que los niños en el grupo de estudio de control en el momento del alta hospitalaria. Los niños en los grupos de control, pescado/fúngico, TGD de huevo/pescado y LHE,
- 10 tuvieron niveles medios (\pm DT) de fosfolípidos AA en plasma (% p) de $9,9 \pm 1,8$, $12,0 \pm 1,7$, $12,5 \pm 2,2$ y $14,1 \pm 2,3$, respectivamente y los niveles medios (\pm DT) de ADH fueron $2,6 \pm 0,7$, $3,4 \pm 0,7$, $3,3 \pm 0,6$ y $3,5 \pm 0,8$, respectivamente, en el momento del alta hospitalaria.

15 Con la excepción de los niveles de AA en y PE de RBC, el análisis estadístico de datos de ácidos grasos en sangre a los 2 y 4 meses EC reveló que los niños alimentados con las fórmulas complementadas con AA+ADH tuvieron mayores niveles en sangre de AA y ADH en plasma y fosfolípidos de RBC que los alimentados con las fórmulas de control ($p < 0,0001$; Tabla 10). Los niños a los que se alimentó con AA+ADH (Pescado/Fúngico) pero no AA+ADH (TGD de huevo/pescado) tuvieron mayores niveles de AA en PE de RBC que los niños a los que se alimentó con fórmula de control ($p=0,02$).

20

Tabla 10. Niveles de ácidos grasos (% p) en plasma y fosfolípidos de glóbulos rojos a los 4 y 12 meses EC - análisis evaluable

	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (EDT/Pescado)	LHE*
Plasma				
20:4n-6 (AA) [†]				
4 Meses EC	8,3 ± 1,8 (63)	12,1 ± 2,0 (64)	11,8 ± 2,1 (53)	13,0 ± 1,7 (10)
12 Meses EC	8,6 ± 2,5 (61)	11,3 ± 2,2 (58)	11,1 ± 2,3 (51)	10,6 ± 2,5 (22)
22:6n-3 (ADH) ^{††}				
4 Meses EC	2,2 ± 1,0 (63)	3,9 ± 0,9 (64)	3,5 ± 0,9 (53)	4,1 ± 0,8 (10)
12 Meses EC	1,8 ± 0,8 (61)	3,4 ± 0,8 (58)	3,1 ± 0,8 (51)	2,6 ± 0,9 (22)
Fosfatidiletanolamina de Glóbulos Rojos				
20:4n-6 (AA) [§]				
4 Meses EC	17,5 ± 7,1 (67)	18,7 ± 7,7 (67)	17,9 ± 7,0 (55)	18,0 ± 7,0 (15)
12 Meses EC	17,3 ± 6,1 (61)	18,7 ± 5,9 (58)	18,5 ± 6,5 (56)	19,9 ± 5,5 (26)
22:6n-3 (ADH) [†]				
4 Meses EC	3,2 ± 1,7 (66)	4,7 ± 2,6 (67)	4,3 ± 2,3 (55)	4,1 ± 2,6 (15)

	Control	AA+ADH (Pescado/Fúngico)	AA+ADH (EDT/Pescado)	LHE*
12 Meses EC	2,4 ± 1,1 (61)	4,2 ± 2,0 (58)	4,0 ± 1,9 (56)	4,1 ± 2,2 (26)
Fosfatidilcolina de Glóbulos Rojos				
20:4n-6 (AA)†				
4 Meses EC	4,4 ± 1,6 (65)	5,8 ± 2,5 (65)	5,6 ± 2,2 (56)	6,5 ± 2,4 (15)
12 Meses EC	4,2 ± 1,8 (61)	5,4 ± 2,0 (58)	5,5 ± 2,0 (56)	6,0 ± 1,9 (26)
22:6n-3 (ADH)†				
4 Meses EC	0,9 ± 0,4 (60)	1,4 ± 0,7 (63)	1,4 ± 0,7 (54)	1,5 ± 0,9 (15)
12 Meses EC	0,7 ± 0,4 (61)	1,3 ± 0,6 (58)	1,1 ± 0,5 (56)	1,2 ± 0,7 (26)

Los valores son la media ± DT (número de sujetos). Las diferencias entre grupos de fórmula se determinaron usando ANCOVA que controla: sitio, sexo, estrato de peso al nacer, alimentación*sexo, alimentación*estrato de peso al nacer, y alimentación*visita.

* Alimentado con Leche Humana Exclusivamente durante el periodo neonatal temprano. Grupo de referencia solamente, estos datos no se incluyeron en los análisis estadísticos.

† Control < AA+ADH (pescado/Fúngico), AA+ADH (TGD de huevo/pescado), p < 0,0001.

‡ AA+ADH (TGD de huevo/pescado) < AA+ADH (pescado/fúngico), p < 0,0169.

§ Control < AA +ADH (pescado/fúngico), p < 0.0173.

1.5.11 Acontecimientos adversos graves y/o inesperados (SAE)

- 5 El porcentaje de niños que tuvieron al menos un SAE no difirió entre los grupos de fórmula del estudio teniendo el 44 %, 46 %, 47 % de los niños seleccionados aleatoriamente para los grupos de control, AA+ADH (pescado/fúngico), AA+ADH (TGD de huevo/pescado), respectivamente, al menos un SAE. El treinta y ocho por ciento, 39 % y 43 % de los niños seleccionados aleatoriamente para los grupos de control, AA+ADH (pescado/fúngico) y AA+ADH (TGD de huevo/pescado), respectivamente, tuvieron al menos una readmisión en el hospital. La comparación del número de
- 10 SAE o readmisiones en el hospital no difirió cuando se realizó comparación entre grupos de alimentación dentro de cada estrato de peso al nacer (750-1250 g o 1251-1800 g). Finalmente, no se encontraron diferencias de la alimentación estadísticamente significativas dentro de cada sistema numérico y alfabético de SAE y clasificación de gravedad.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de ADH y AA para la fabricación de una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en cantidades que, si dicha fórmula enriquecida con nutrientes fuera la única fuente de consumo calórico, suministraría un consumo diario promedio por kg de peso corporal de 2 a 65 mg de ADH y de 2 a 65 mg de AA, en un régimen de alimentación que continúa hasta que dicho niño prematuro alcanza una edad corregida de seis meses, para potenciar el desarrollo neurológico de un niño prematuro.
- 10 2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 donde dicha fórmula enriquecida con nutrientes contiene ADH y AA en cantidades que, si dicha fórmula enriquecida con nutrientes fuera la única fuente de consumo calórico, suministraría un consumo diario promedio por kg de peso corporal de 3 a 35 mg de ADH y de 5 a 50 mg de AA.
- 15 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 donde dicha fórmula enriquecida con nutrientes contiene ADH y AA en cantidades que, si dicha fórmula enriquecida con nutrientes fuera la única fuente de consumo calórico, suministraría un consumo diario promedio por kg de peso corporal de 7 a 26 mg de ADH y de 20 a 40 mg de AA.
- 20 4. Uso de ADH y AA para la fabricación de una fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en concentraciones basadas en el porcentaje p/p de ácidos grasos totales de 0,15 a 1,0 % de ADH y de 0,2 a 1,0 % de AA, en un régimen de alimentación que continúa hasta que dicho niño prematuro alcanza una edad corregida de seis meses y que constituye del 100 % al 50 % del consumo calórico del niño prematuro, para potenciar el desarrollo neurológico de un niño prematuro.
- 25 5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4 donde dicha fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en concentraciones basadas en el porcentaje p/p de ácidos grasos totales de 0,19 a 0,36 % de ADH y de 0,35 a 0,7 % de AA.
- 30 6. El uso de acuerdo con la reivindicación 4 donde dicha fórmula enriquecida con nutrientes que contiene ADH y AA en concentraciones basadas en el porcentaje p/p de ácidos grasos totales de 0,22 a 0,3 % de ADH y de 0,4 a 0,5 % de AA.
- 35 7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde el desarrollo neurológico potenciado comprende desarrollo visual potenciado.
8. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde el desarrollo neurológico potenciado es desarrollo motor potenciado.
9. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde el desarrollo neurológico potenciado es desarrollo del lenguaje potenciado.
- 40 10. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde dicha fórmula enriquecida con nutrientes se usa en un régimen de alimentación en combinación con leche humana.

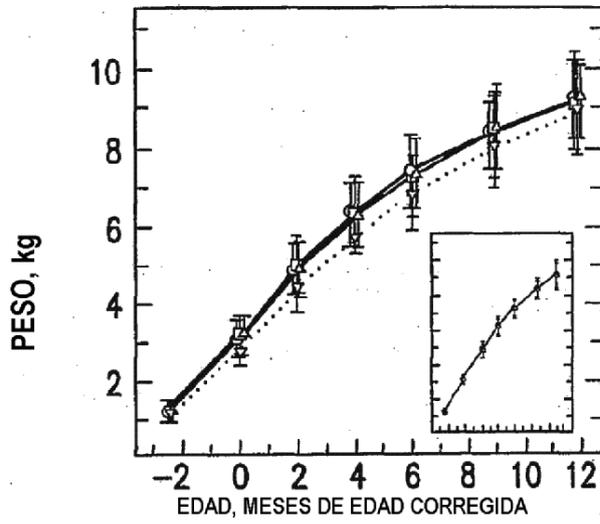


FIG. 1a

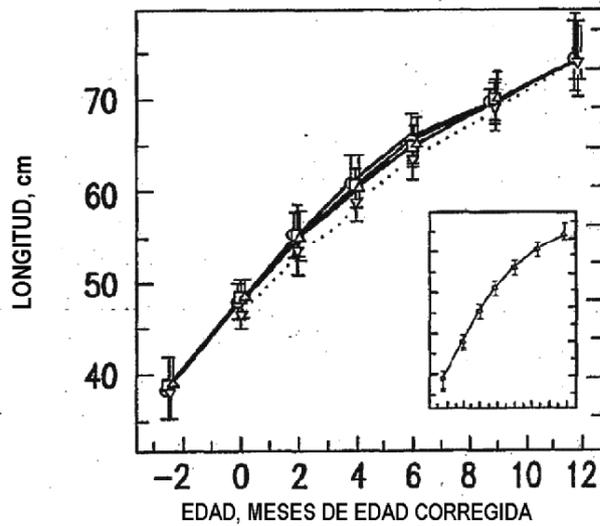


FIG. 1b

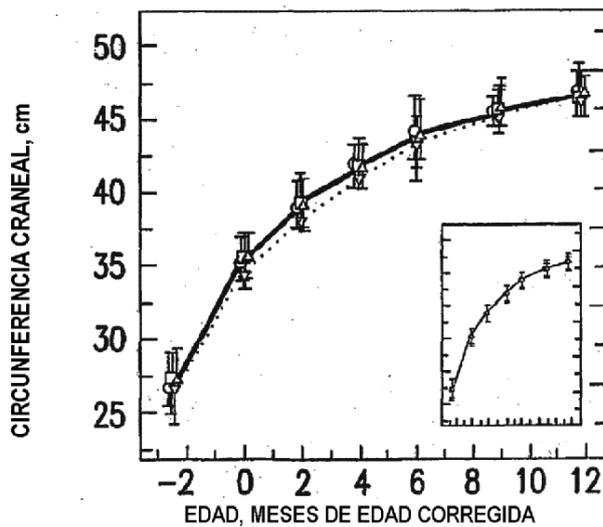


FIG. 1c

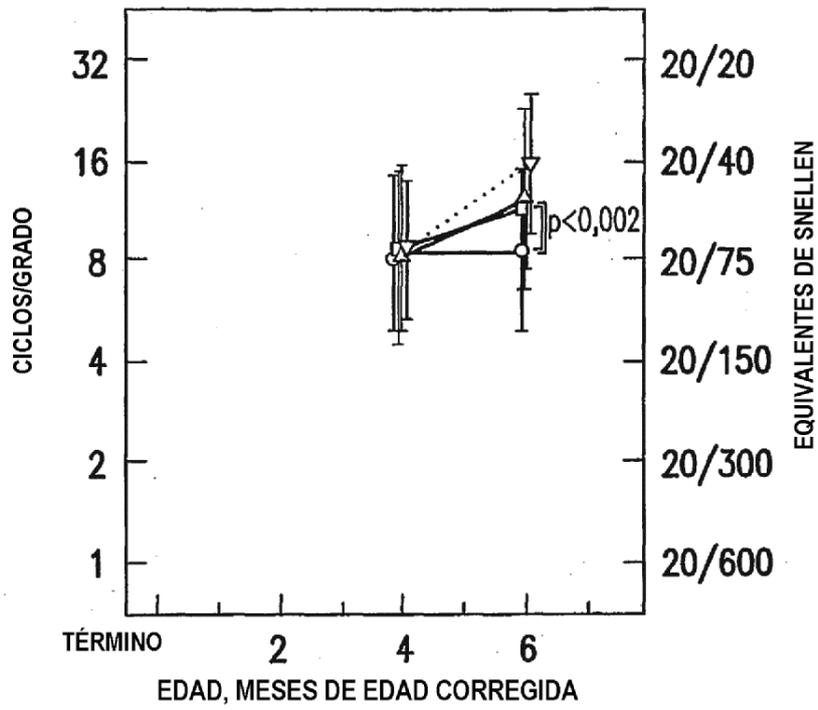


FIG.2

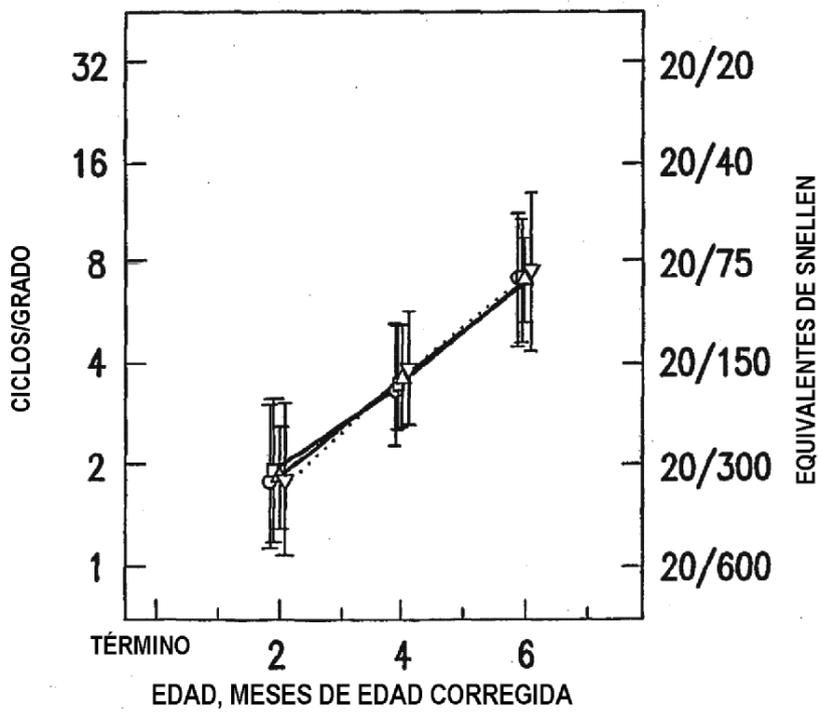


FIG.3