



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ANÁLISIS Y COMPARACIÓN NUTRICIONAL DE LA LECHE MATERNA
HUMANA EN ETAPAS TEMPRANAS DE LACTANCIA Y POSTERIOR A LOS 6
MESES. BENEFICIOS Y PANORAMA.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**P R E S E N T A :
KAREN ITZAYANA ROJAS TORRES**



CD. MX. 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Elena Zambrano González

VOCAL: Inés Miranda Martínez

SECRETARIO: Aleida Mina Cetina

1er. SUPLENTE: Tania Gómez Sierra

2° SUPLENTE: Eva Patricia Bermúdez García

SITIO DONDE SE ELABORÓ:

Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Elena Zambrano González _____

SUSTENTANTE:

Karen Itzayana Rojas Torres _____

AGRADECIMIENTOS:

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. A todo el Departamento de Biología de la Reproducción, por permitirme realizar el presente trabajo. En especial al equipo de la Dra. Zambrano y las compañeras del equipo “leche materna”.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado con nombre de proyecto “Impacto nutricional y hormonal materno sobre la concentración de cortisol en leche humana” (FOSSIS 273137). Así como por las becas otorgadas como Becaria a Proyecto de Investigación (RCUK-CONACyT I000/726/2016 FONCICYT/49/2016) y Ayudante de Investigador Nacional Nivel III durante mi estancia en este proyecto.

A las mujeres que decidieron participar en el proyecto por darnos su tiempo, interés y ser comprometidas con su participación. Cada una de ustedes hizo posible esta tesis. En especial, gracias a Melissa por ayudarme a entender la importancia del apoyo, reconocimiento e información que las mamás necesitan para continuar alimentando a su hijo en etapas avanzadas de lactancia.

ÍNDICE

RESÚMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1. Composición de la leche humana	5
1.1.1. Agua	6
1.1.2. Proteínas	6
1.1.3. Lípidos	7
1.1.4. Hidratos de Carbono.....	8
1.1.5. Factores de crecimiento	9
1.1.6. Factores inmunológicos.....	10
1.2. Fases de lactancia	10
1.3. Clasificación de la leche humana	12
1.3.1. Calostro	12
1.3.2. Leche de Transición	13
1.3.3. Leche Madura.....	14
1.4. Lactancia Materna.....	15
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
3. HIPÓTESIS	19
4. OBJETIVOS	19
5. METODOLOGÍA	20
5.3. Firma de consentimiento informado	22
5.4. Obtención de la muestra de sangre	22
5.5. Aplicación de cuestionario.....	22
5.6. Obtención de la muestra de leche.....	23

5.7. Análisis de muestras	25
5.7.1. Determinación de agua.....	25
5.7.2. Determinación de proteína	26
5.7.2.1. Curva Patrón de Albúmina de Suero Bovino (BSA)	26
5.7.2.2. Preparación de muestras	27
5.7.3. Determinación de grasa.....	28
5.7.4. Determinación de triglicéridos.....	29
5.7.5. Determinación de leptina, insulina y resistina	30
5.8. Análisis Estadístico	30
6. RESULTADOS.....	31
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	42
8. RESUMEN DE RESULTADOS	55
9. CONCLUSIONES	55
10. Referencias	56
11. ANEXOS	61

RESÚMEN

La leche materna es una importante vía de comunicación entre la madre y el hijo durante las primeras etapas de la vida. Una evidencia amplia indica que es el alimento esencial para garantizar un crecimiento y desarrollo saludables de bebés y niños. Es por ello que organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) recomiendan la lactancia materna exclusiva mínimo durante seis meses, y su mantenimiento hasta los dos años o más.

Existen pocos estudios experimentales respecto a composición nutrimental y componentes bioactivos de la leche humana en mujeres mexicanas después de los seis meses de lactancia, por lo que el objetivo de este estudio es comparar el contenido nutrimental y de componentes bioactivos en diferentes etapas de lactancia, haciendo énfasis en periodos posteriores a los seis meses. El estudio consistió en reclutar mujeres en cualquier etapa de lactancia para recolectar una muestra de leche materna con una bomba de extracción eléctrica y, cuantificar el contenido de agua, proteína, grasa, triglicéridos, leptina, insulina y resistina; además de realizar el cálculo del contenido calórico.

Se observó que para llevar a cabo una correcta extracción de leche materna, es necesario identificar la forma de eyección de la leche de cada mujer durante la toma de muestra, y así detener la extracción en el momento correcto. En cuanto a la composición nutrimental, se encontraron que los cambios importantes suceden durante la primera semana de lactancia y, la concentración de proteína presente en las primeras cuarenta y ocho horas es mayor respecto a los demás periodos de lactancia. La práctica de la lactancia materna durante los primeros tres meses posparto favorece a que las mujeres regresen a su peso pre-gestacional. Además de la importancia del apego entre madre e hijo, la presencia de otros componentes bioactivos como la leptina, resistina e insulina después de los seis meses de lactancia, los cuales pueden ayudar a la prevención de sobrepeso y obesidad.

Se demostró que existe diferencia en la composición nutrimental de la leche materna entre la primera semana y periodos posteriores de lactancia. Sin embargo, es importante que el niño siga consumiendo leche materna después de los seis meses, aun cuando ya inició con la alimentación complementaria; ya que la leche materna sigue aportando nutrimentos que ayudan a complementar su dieta, favorece el establecimiento de vínculos afectivos entre madre e hijo y, provee componentes bioactivos como las hormonas estudiadas en el presente trabajo, que no se encuentran en fórmulas lácteas o algún otro tipo de leche. Estos componentes bioactivos son importantes para la regulación del balance energético, prevenir obesidad, resistencia a la insulina y diabetes en la etapa adulta.

INTRODUCCIÓN

La leche materna es una importante vía de comunicación entre la madre y el hijo durante las primeras etapas de la vida. Una amplia evidencia indica que es esencial para garantizar un crecimiento y desarrollo saludables de bebés y niños. La leche humana ofrece al niño el alimento ideal y completo durante los primeros dos años. Cada leche tiene características propias que la diferencian significativamente de otras leches de mamíferos y la hacen adecuada a la cría de la especie (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995). Desde el punto de vista nutricional, el periodo que abarca los primeros meses de vida es muy vulnerable, ya que en ninguna otra etapa de la vida la única fuente de nutrición es sólo un alimento, y es cuando se lleva a cabo la maduración y desarrollo de los órganos (Picciano, 2001). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la lactancia materna exclusiva durante seis meses y su mantenimiento hasta los dos años o más (OMS, 2018).

En el año 2012, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) reportó que en México el 14.4% de los niños recibieron lactancia materna exclusiva hasta los seis meses y el 14.1% lactancia hasta los dos años (INSP, 2012). Existen diversos factores no relacionados con problemas de salud de la madre o el hijo por las que se presenta un índice bajo de lactancia materna en nuestro país ya que el medio en el que se desarrolla y vive la mujer mexicana es hostil a la lactancia (INSP, 2012). Con base en textos donde mencionan los factores que influyen en la deserción de la lactancia, y la entrevista aplicada en el presente proyecto que durante la toma de muestra se realiza a las mujeres, se pueden enlistar principalmente los siguientes: el rechazo por la sociedad a que una mujer amamante en público; el apoyo, protección y promoción de la lactancia materna en México por parte de las instituciones de salud no es la adecuada, ya que con frecuencia después del parto a las mujeres se le separa de su hijo y el personal encargado del bebé opta por alimentarlo con fórmula láctea, y en visitas posnatales la madre no encuentra personal de salud con las competencias suficientes para ayudarle a resolver los problemas comunes de lactancia y suele resolverlos inmediatamente con la introducción de la fórmula (INSP, 2012); el poco o nulo apoyo para las

mujeres que trabajan para contar con un espacio de lactancia adecuado e higiénico designado y un horario para facilitar la extracción y almacenamiento de la leche; la familia en algunos casos niega el apoyo a la mujer para que continúe por más tiempo amamantando a su hijo, debido a ideas y creencias que culpan a la leche materna producida en etapas avanzadas de la lactancia como una leche sin aporte nutrimental para el niño. Es importante dejar en claro el término “lactancia materna prolongada” ya que puede llevar a la confusión. La palabra “prolongar” significa hacer que algo dure más tiempo de lo normal o establecido y el usar este término puede hacer pensar que la lactancia en niños mayores de seis meses se considera como algo que está “más allá de las recomendaciones”, cuando en realidad es un objetivo en salud materno-infantil. Por este motivo, algunos autores consideran adecuado hablar de “lactancia materna”, sin más adjetivos, con el objetivo de normalizar este hecho (AEP & Gómez Fernández-Vegue, 2015), o en su defecto, “lactancia materna extendida”.

Se eligieron etapas posteriores a los seis meses de lactancia para el estudio, debido a los pocos estudios experimentales respecto a composición nutrimental y componentes bioactivos de la leche materna, además de la importancia del sexto mes de lactancia ya que a partir de este momento el niño comienza con la alimentación complementaria, y aun cuando la leche materna no cubre con todos los requerimientos nutrimentales es necesario que el niño continúe consumiéndola para complementar su dieta, fortalecer lazos afectivos con su madre y le proporcione componentes bioactivos que ningún otro tipo de leche contiene.

1. MARCO TEÓRICO

La **leche humana** no es un fluido corporal uniforme sino una secreción de la glándula mamaria de composición cambiante (Anatolitou, 2012) con respecto a los componentes nutrimentales y bioactivos que incluyen células vivas, agentes anti-infecciosos y anti-inflamatorios, factores de crecimiento y prebióticos (Ballard & Morrow, 2013). Su composición ha evolucionado con el tiempo para proporcionarle al niño una nutrición y protección equilibradas contra patógenos infecciosos potenciales, mientras el sistema inmune neonatal completa su desarrollo. Las influencias en las diferencias de composición nutrimental de la leche materna incluyen la etapa de lactancia, duración de la gestación, enfermedades maternas, genotipo y la dieta (Mosca & Gianni, 2017). Otra característica importante es que la leche inicial es diferente a la de la leche final de la tetada y su composición puede variar dependiendo la hora del día (Anatolitou, 2012). La leche humana se clasifica en calostro, leche de transición y leche madura de acuerdo a la etapa de lactancia en la que se produce. Sin embargo, debe tomarse en cuenta que esta clasificación se refiere a los cambios graduales que ocurren en la leche humana, según la etapa de lactancia (a partir de las primeras horas posparto hasta el primer mes de lactancia se presentan esos cambios), en lugar de indicar clases específicas de leche (Mosca & Gianni, 2017).

1.1. Composición de la leche humana

La leche humana es un fluido biológico complejo compuesto por miles de constituyentes: una fase acuosa con soluciones verdaderas (87%), dispersiones coloidales de moléculas de caseína (0,3%), emulsiones de glóbulos de grasa (4%), membranas de glóbulos de grasa, y células vivas, los cuales se pueden clasificar ampliamente de acuerdo a sus propiedades físicas o fisiológicas. Estas categorías de componentes incluyen: proteínas, nitrógeno no proteico, carbohidratos, lípidos, vitaminas hidrosolubles, componentes minerales e iónicos, minerales traza y células (Picciano, 2001). Estos componentes nutricionales derivan de tres fuentes: los nutrimentos se originan por síntesis en el lactocito, de la dieta, y los que provienen

de la madre. En general, la calidad nutricional de la leche humana se conserva, pero la atención a la dieta materna es importante para algunas vitaminas y la composición de ácidos grasos (Ballard & Morrow, 2013). Los principales componentes son: agua, proteínas, lípidos, hidratos de carbono, factores de crecimiento y factores inmunológicos.

1.1.1. Agua

La leche materna contiene alrededor de 88% de agua. Su osmolaridad es semejante al plasma por lo que le permite al niño mantener un perfecto equilibrio electrolítico (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995).

1.1.2. Proteínas

El contenido de proteína en la leche humana es alto en las secreciones tempranas y disminuye lentamente conforme avanza la lactancia (Picciano, 2001). Las proteínas representan una tercera parte de los sólidos, no sólo proporcionan nutrición sino también realizan varias funciones bioactivas. Son esenciales para permitir un crecimiento saludable de los bebés pero también actúan como portadores de otros nutrientes (lactoferrina, haptocorrina¹, α -lactoalbúmina, proteína fijadora de folato, β -caseína), promueven el desarrollo intestinal (factores de crecimiento, lactoferrina) y absorción de nutrientes (lipasa estimulada por sales biliares, amilasa, α 1-antitripsina), y poseen actividad inmune y antimicrobiana (lactoferrina, inmunoglobina secretora IgA, osteopontina, citoquinas, lisozima, etc.). Las proteínas de la leche humana pueden ser agrupadas en tres grandes clases: caseínas, suero y mucinas. Las caseínas como la α -, β - y κ -caseína se ensamblan en micelas, mientras que las proteínas de suero como la α -lactoalbúmina, lactoferrina, lisozima e IgA están presentes en la solución, y las mucinas están incorporadas dentro de la membrana del glóbulo de grasa (Mosca & Gianni, 2017). La fracción de nitrógeno no proteico consiste en más de doscientos compuestos y

¹ Proteína transportadora de Vitamina B₁₂. *Lazarowski, Alberto (2015). Transporte de vitamina B₁₂. Un laberinto de única entrada y múltiples caminos incompletos*

comprende el 25% de la cantidad total de nitrógeno de la leche humana, incluyendo aminoácidos, carnitina, taurina (necesaria para conjugar ácidos biliares y como posible neurotransmisor o neuromodulador del cerebro y la retina), amino azúcares, ácidos nucleicos, nucleótidos (afectan la absorción de grasas y numerosos factores de crecimiento entre los que se incluyen el epidérmico, el similar a la insulina y el de nervios, entre otros), y poliaminas. Ocho de los veinte aminoácidos presentes en la leche son esenciales y provienen del plasma de la madre, mientras que los no esenciales son sintetizados del epitelio alveolar de la glándula mamaria ((Picciano, 2001); (Mosca & Gianni, 2017); (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995)).

1.1.3.Lípidos

Los lípidos son la fuente principal de energía que proporciona la leche materna al bebé, siendo la mayor porción de la ingesta total de energía, con una media del 44% del suministro de energía. Los lípidos proporcionan nutrientes esenciales como los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), vitaminas liposolubles, lípidos complejos y componentes bioactivos. Están presentes en forma de glóbulos grasos que comprenden un núcleo de lípidos no polares, principalmente triglicéridos, formados en el retículo endoplasmático de las células mamarias epiteliales (Koletzko, 2016).

Los triglicéridos representan el 98% de la grasa de la leche humana y sus propiedades se ven afectadas en gran medida por su composición de ácidos grasos. La leche humana contiene más de 200 ácidos grasos, que están presentes en diferentes concentraciones (Mosca & Gianni, 2017), siendo el ácido palmítico el que proporciona aproximadamente el 25% de todos los ácidos grasos de la leche y, por lo tanto, la mayor parte del contenido total de ácidos grasos saturados (Koletzko, 2016).

Mientras que la concentración media de lípidos en la leche humana es relativamente estable durante el transcurso de los primeros meses de lactancia, hay una variación muy amplia interindividual e intraindividual de las concentraciones de grasa en la leche. De hecho, entre los macronutrientes de la leche, la grasa

muestra la concentración más variable (Koletzko, 2016). Hay fluctuaciones diurnas, que son dependientes de la frecuencia de las tetadas. También hay una importante variación dentro de una misma tetada, siendo la leche final, de cuatro a cinco veces más concentrada en grasa que la primera por lo que contiene mayor contenido calórico. Se cree que esta concentración de grasa de la segunda parte de la tetada tiene que ver con el mecanismo de saciedad del niño (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995).

1.1.4. Hidratos de Carbono

El principal hidrato de carbono de la leche humana es la lactosa y su concentración es la menos variable de los macronutrientes. El alto contenido en la leche humana, 6.7g/100ml, que excede la de otras especies, refleja los altos requerimientos nutricionales del cerebro humano. La lactosa también representa una fuente importante de galactosa que, a su vez, es importante para promover el desarrollo del sistema nervioso central ((Mosca & Gianni, 2017); (Ballard & Morrow, 2013)).

La leche humana también contiene monosacáridos (principalmente glucosa y galactosa) (Anatolitu, 2012) y más de doscientos diferentes oligosacáridos, los cuales son carbohidratos no digeribles y constituyen el componente más abundante en la leche materna. Los oligosacáridos tienen múltiples acciones que se han asociado con los efectos benéficos sobre la salud intestinal y la reducción en enterocolitis necrotizante (NEC), también influyen en la microbiota intestinal mediante el uso de prebióticos para bacterias comensales tales como bifidobacterias, funcionan como señuelos que unen a los patógenos debido a la similitud estructural entre los oligosacáridos y los glicanos de la superficie de las células epiteliales intestinales (Patel & Kim, 2018).

1.1.5. Factores de crecimiento

La leche humana contiene numerosos factores de crecimiento que tienen efectos de gran alcance en el tracto intestinal, la vasculatura, el sistema nervioso y el sistema endocrino. Entre estos factores se encuentran: factor de maduración intestinal y reparación, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento y desarrollo del sistema nervioso enteral, factor de regulación del sistema vascular (VEGF), hormonas de desarrollo intestinal y prevención de la anemia (la eritropoyetina), las hormonas reguladoras del crecimiento (calcitonina y somatostatina), hormonas de regulación del metabolismo y de la composición corporal (Ballard & Morrow, 2013).

El efecto general de la leche materna sobre el crecimiento y desarrollo de los bebés parece estar influenciado por la composición y cantidad de una variedad de adipocinas (Kratzsch, Bae, & Kiess, 2018). Las hormonas secretadas en la leche que están involucradas en el control del apetito posiblemente ayuden al recién nacido a regular positivamente la ingesta de alimentos, mientras el sistema endocrino madura por completo y puede secretar hormonas pancreáticas para facilitar la digestión. En consecuencia, una concentración adecuada de estos péptidos es importante para evitar alteraciones metabólicas en el neonato. Existe cierta controversia con respecto a la funcionalidad de estas hormonas después de que hayan pasado por el tracto digestivo. Sin embargo, la inmadurez de este sistema del recién nacido permite que estas hormonas se muevan dentro del intestino y lleguen al torrente sanguíneo del recién nacido para lograr su función (Badillo Suárez, Rodríguez Cruz, & Nieves Morales, 2017).

Entre estas hormonas se encuentran: la leptina, la insulina y la resistina. Estos componentes bioactivos desempeñan un papel importante en la regulación central del balance energético implicados en el metabolismo, además son un vínculo importante entre la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes en las etapas posteriores de la vida (Palou & Picó, Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life, 2009); (Badillo Suárez, Rodríguez Cruz, & Nieves Morales, 2017)). La leptina es una hormona producida

principalmente por el tejido adiposo y también es producida por otros tejidos como el estómago, placenta músculo esquelético y el epitelio mamario (Palou & Picó, Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life, 2009). La insulina es una hormona polipeptídica involucrada en el anabolismo de carbohidratos que responde rápidamente a la ingesta de alimentos, esto hace que sea una hormona clave en la homeostasis de la glucosa en sangre (Badillo Suárez, Rodríguez Cruz, & Nieves Morales, 2017). La resistina es antagonista de la función de la insulina, inhibe la diferenciación de adipocitos y desempeña una función que estimula el apetito, especialmente en pacientes con bajo peso o con un trastorno metabólico (Badillo Suárez, Rodríguez Cruz, & Nieves Morales, 2017).

1.1.6. Factores inmunológicos

La alimentación con leche humana protege contra la infección y la inflamación, la leche de etapas tempranas de lactancia está enriquecida de factores inmunes que ayudan a asegurar la supervivencia infantil. Los componentes protectores específicos de la leche humana son numerosos y multifuncionales, entre los que se encuentran: células vivas (para la transferencia de la protección y programación), citocinas y quimiocinas (para la comunicación entre células), factores adquiridos e innatos (para la protección contra la infección), oligosacáridos (funcionan como selección para el crecimiento de organismos benéficos) (Ballard & Morrow, 2013).

1.2. Fases de lactancia

Se denomina “lactogénesis” al proceso mediante el cual las células epiteliales de los alveolos de la glándula mamaria sintetizan los constituyentes de la leche y los entregan al volumen alveolar (Ministerio de Salud de Chile, 2010). La lactogénesis se divide en tres estadios, los cuales son: estadio I (comienza en el

embarazo), estadio II (inicio de la secreción láctea) y estadio III (galactopoyesis, establecimiento y mantenimiento de la secreción láctea madura).

Estadio I: Comienza en el embarazo. Los estrógenos y la progesterona secretados por la placenta, son hormonas esenciales para el desarrollo físico de las mamas durante el embarazo e inhiben la secreción de leche. La prolactina estimula esta secreción y su concentración en sangre se eleva constantemente desde la quinta semana del embarazo hasta el nacimiento del bebé. También la placenta secreta grandes cantidades de somatomotropina coriónica humana, que coadyuva la acción de la prolactina, por ello, a pesar de los efectos inhibidores de los estrógenos y la progesterona, la glándula mamaria secreta calostro desde diez y doce semanas antes del parto (Aguilar Palafox & Fernández Ortega, 2007).

Estadio II: Inicio de la secreción láctea. El inicio de la producción de leche como tal, uno a cinco días después del parto, depende de tres factores: desarrollo adecuado de las mamas durante el embarazo, mantenimiento en el plasma sanguíneo de adecuados niveles de prolactina y la caída de los esteroides sexuales (Ministerio de Salud de Chile, 2010). Después del parto, ocurre el descenso brusco de los estrógenos y la progesterona y aumento de los niveles de prolactina, que asume su papel de estimulador de producción de leche. Las mamas comienzan a secretar grandes cantidades de leche en lugar de calostro, de 30 a 150 ml por día hasta alcanzar los 300 ml entre el quinto y sexto día posparto, asociado a los cambios en su composición. Esta secreción láctea requiere del estímulo de otras hormonas como la del crecimiento, el cortisol, la hormona paratiroidea y la insulina, necesarias porque proporcionan sustratos para la formación de leche (aminoácidos, ácidos grasos, glucosa y calcio) (Aguilar Palafox & Fernández Ortega, 2007).

Si el estadio II se inicia después de setenta y dos horas posparto se define como “lactogenesis retrasada II” (DLII). Los lactantes de madres que experimentan DLII presentan una pérdida de peso excesiva y por lo tanto están en alto riesgo de recibir suplementación con fórmula láctea, incluso si el objetivo de la madre es amamantar exclusivamente. Además, las mujeres que la experimentan están en alto riesgo de cese prematuro de la lactancia. Estudios han demostrado que un índice

de masa corporal alto está asociado con una DLII y otros factores maternos que se asocian con un retraso en el estadio II incluyen el aumento de la edad materna, ser madre primeriza, diabetes gestacional, cesárea, medicamentos para el dolor de parto y dolor de pezón al amamantar (Preusting, Brumley, Odibo, Spartz, & Louis, 2017).

Estadio III. Galactopoyesis, establecimiento y mantenimiento de la secreción láctea madura. El mecanismo se inicia con el reflejo de succión del bebé al estimular los receptores sensitivos del pezón, lo que produce un reflejo neural aferente, vía médula espinal al mesencéfalo y de ahí al hipotálamo, desencadenando la secreción de prolactina de la hipófisis anterior y oxitocina de la hipófisis posterior. La prolactina es la hormona galactopoyética más importante en la iniciación de la producción alveolar de la leche (Ministerio de Salud de Chile, 2010). La cantidad de prolactina secretada es proporcional a las veces que se estimula el pezón, además los niveles son mayores por la noche. La oxitocina estimula la contracción de las células mioepiteliales que cubren los alveolos, y estimula el vaciamiento hacia los conductos galactóforos y finalmente hacia el pezón (reflejo de eyección), esta liberación disminuye con la ingesta de alcohol, el estrés de la madre y el hijo (Aguilar Palafox & Fernández Ortega, 2007).

1.3. Clasificación de la leche humana

1.3.1. Calostro

La primera leche producida durante los primeros tres o cuatro días después del parto se conoce como calostro y se distingue por ser un líquido amarillento y espeso de alta densidad y poco volumen. El alto contenido de inmunoglobulinas secretoras indica que el papel principal del calostro es inmunológico en lugar de nutricional y también puede actuar como promotor de crecimiento ya que contiene altas concentraciones de factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento transformante (TGF- β) y factor estimulante de colonias. La función protectora del

calostro se destaca aún más por el contenido particularmente alto de oligosacáridos, que aproximadamente duplica el de la leche madura, disminuyendo de 21g/100ml en el cuarto día a 13g/100ml al final del segundo mes de lactancia (Mosca & Gianni, 2017). Su abundancia y diversidad promueve la colonización óptima de la microbiota que condicionará la futura homeostasis inmune (Vieira Borba, Sharif, & Shoenfeld, 2018); la baja concentración de lactosa es otro indicador de la actividad inmunológica que marca como función primaria del calostro. Los niveles de sodio, cloro y magnesio son mayores, mientras que los de potasio y calcio son menores en comparación con la leche madura (Ballard & Morrow, 2013). En el calostro se encuentra presente una alta concentración de componentes inmunológicos como la inmunoglobulina secretora A (IgA) la cual protege tanto a la glándula mamaria como a las mucosas del lactante en el periodo en el que su secreción es insuficiente (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995). La lactoferrina es una glicoproteína de unión al hierro no hemo que presenta una acción bacteriostática debido a su capacidad para secuestrar el hierro que las bacterias dependientes de hierro necesitan dañando la membrana bacteriana y en adición a sus propiedades anti-infecciosas, juega un papel importante en la absorción de hierro, proliferación y diferenciación de células intestinales, y además ejerce efectos inmunomoduladores (Patel & Kim, 2018). Tanto la IgA como la lactoferrina se diluyen al aumentar la producción de leche y mantienen una producción diaria de 2-3 g de ambas. Otros de los inmuno componentes presentes en el calostro son: la lisozima, linfocitos y macrófagos. La lisozima constituye un factor antimicrobiano no específico y contribuye al mantenimiento de la flora intestinal del lactante y contiene propiedades anti-inflamatorias; los linfocitos y macrófagos confieren al recién nacido una eficiente protección contra los gérmenes del medio ambiente (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995).

1.3.2. Leche de Transición

El calostro será gradualmente reemplazado por la leche de transición que se produce después de 4 o 5 días posparto. Comparte algunas características del calostro pero representa un periodo de producción de leche “acelerada” para apoyar

las necesidades nutrimentales y de desarrollo del rápido crecimiento. Como se produce un cierre en la unión estrecha del epitelio mamario, la proporción de sodio/potasio disminuye y la concentración de lactosa aumenta, dando inicio a la activación secretora siendo variable entre las mujeres pero generalmente ocurre durante los primeros días después del parto. Los marcadores bioquímicos para el inicio de la activación secretora incluyen su contenido de sodio, la proporción sodio a potasio, citrato y lactosa (Ballard & Morrow, 2013). Los cambios de composición y volumen son muy significativos entre mujeres y dentro una misma mujer, durante los primeros 8 días, para luego estabilizarse (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995).

1.3.3. Leche Madura

A partir de la segunda semana después del parto, la leche se considera en gran parte madura, llegando a estar completamente madura entre la cuarta y sexta semana (Mosca & Gianni, 2017). La leche madura se caracteriza por la disminución de las concentraciones relativas de las moléculas inmunológicamente activas, mientras que el volumen y los requerimientos nutricionales aumentan para satisfacer las crecientes necesidades del bebé (Vieira Borba, Sharif, & Shoenfeld, 2018). En contraste con el cambio dramático en la composición observado en el primer mes de vida, la leche humana sigue siendo relativamente similar en composición, aunque sí ocurren cambios sutiles en la composición de la leche en el transcurso de la lactancia (Ballard & Morrow, 2013) esto no sólo entre mujeres sino también en la misma madre, entre ambas mamas, entre tetadas y durante una misma tetada. El volumen promedio de la leche madura producida por una mujer es de 700 a 900 ml/día durante los 6 primeros meses posparto, y aproximadamente 500 ml/día en el segundo semestre. Si la madre tiene que alimentar a más de un niño, producirá un volumen suficiente (de 700 a 900 ml) para cada uno de ellos (Ministerio de Salud de Chile, 2010).

1.4. Lactancia Materna

La lactancia materna es la forma de proporcionar a la persona recién nacida leche humana (hablando de humanos), siendo el alimento ideal para el crecimiento y el desarrollo sano del lactante (Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-2016. Diario Oficial de la Federación, 2016), (OMS, 2018). Los términos usados para describir las diversas etapas de lactancia pueden ser ambiguos o engañosos. Se considera “lactancia exclusiva” cuando la leche materna es la única fuente de nutrimentos, “lactancia parcial” cuando el niño consume leche materna y otros alimentos (incluida la fórmula láctea) y el “cese de la lactancia” hasta que el niño es totalmente destetado y no recibe más leche materna (Prentice, 1991). La leche materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida, con la continuación de la lactancia durante uno o dos años o más, se reconoce como el estándar normativo para la alimentación infantil (Ballard & Morrow, 2013). La lactancia no sólo es una fuente de nutrición completamente adaptada, sino también una medicina personalizada para los bebés, programando en cierta medida su salud futura (Vieira Borba, Sharif, & Shoenfeld, 2018).

Los beneficios de la lactancia materna se extienden a diferentes grupos, como lo son el niño quien recibe la leche, la madre, la sociedad y la humanidad. Algunas de las ventajas que se presentan son las siguientes:

- *Nutrición óptima*: Ningún alimento es mejor que la leche materna en cuanto a calidad, consistencia, temperatura, composición y equilibrio de nutrimentos. La composición de la leche se va adecuando a las necesidades del niño, a medida que éste crece y se desarrolla.
- *Nutrición adecuada para prematuros*: La leche de pre término tiene menor cantidad de lactosa y mayor cantidad de proteínas, IgA y lactoferrina.
- *Protección inmunológica*: La leche materna es indispensable para formar un eficiente sistema inmunitario en el niño y para sentar las bases de una buena salud para general para el adulto.

- *Fácil digestibilidad:* De fácil digestión y se aprovechan al máximo todos sus nutrimentos.
- *Crecimiento y desarrollo óptimo:* Los niños pueden ser alimentados hasta los 6 meses sólo con leche materna, asegurando con ello un desarrollo y crecimiento normales y continuarán creciendo bien si a esa edad se inicia la alimentación complementaria y se mantiene la leche materna como único alimento lácteo hasta los 12 meses.
- *Organización sensorial:* El contacto físico del niño con la madre durante el amamantamiento organiza armónicamente sus patrones sensoriales y gratifica profundamente sus sentidos.
- *Organización biocronológica y del estado de alerta:* Durante al menos 3 meses el niño necesita tener contacto físico regular y constante con su madre para organizar sus propios ritmos basales y su estado de alerta.
- *Desarrollo dentomaxilar y facial:* Del equilibrio funcional de la succión-deglución-respiración en los primeros meses de vida depende en gran medida el buen desarrollo dento-máxilo-facial y la maduración de las futuras funciones bucales: masticación, expresión mimética y fonoarticulación del lenguaje.
- *Desarrollo intelectual del niño:* Los niños amamantados son más activos, presentan un mejor desarrollo psicomotor y una mejor capacidad de aprendizaje. La lactancia materna se asocia con un mayor coeficiente intelectual en el niño. (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995).
- *Recuperación de la madre posparto:* Por el estímulo de succión inmediatamente después del parto, la oxitocina producida actúa sobre el útero contrayéndolo para evitar el sangramiento y reducirlo a su tamaño original.
- *Establecimiento del apego:* Produce un reconocimiento mutuo entre madre e hijo para establecer un fuerte lazo afectivo, lo que induce en la madre un profundo sentimiento de ternura y necesidad de protección para su hijo.

- *Refuerzo de lazos afectivos familiares:* El amamantamiento del niño es una experiencia familiar.
- *Prevención del maltrato infantil:* Ya que la primera manifestación de maltrato infantil es no satisfacer las necesidades básicas del bebé, entre ellas se encuentran los nutrientes para su crecimiento y desarrollo.
- *Economía de recursos:* La lactancia materna ahorra enormes cantidades de dinero a la familia, por ejemplo, evitar comprar fórmulas lácteas o reducir gastos hospitalarios por la reducción de enfermedades.
- *Ventajas ecológicas:* No desperdicia recursos naturales ni crea contaminación. La leche materna se renueva con cada embarazo y dura hasta que sea necesario para alimentar adecuadamente al niño (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995).
- *Impacto a la productividad:* Disminuye hasta un 35% las incidencias en salud en el primer año de vida y reduce el ausentismo de las madres entre un 30% y un 70% (UNICEF, 2015).

En el año 2012, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) reportó que en México el 14.4% de los niños recibieron lactancia materna exclusiva hasta los seis meses, en el 25% predominaba la lactancia materna y el 14.1% llevaron una lactancia continua hasta los dos años (INSP, 2012).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen pocos estudios experimentales respecto a composición nutrimental y componentes bioactivos de la leche humana en mujeres mexicanas después de los seis meses de lactancia. La leche materna que se produce a partir del primer mes de lactancia no presenta variación en la composición nutrimental, inclusive después de los seis meses; esta etapa es de suma importancia, ya que durante el sexto mes de lactancia la leche materna cubre el 80% de los requerimientos nutrimentales del niño, por lo que se recomienda el inicio de la alimentación complementaria. La recomendación de organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) es continuar con el consumo de leche materna hasta los dos años de vida para complementar la alimentación del niño, por lo que el siguiente trabajo tiene como finalidad hacer un estudio por periodos de lactancia enfatizando en etapas posteriores a los seis meses.

3. HIPÓTESIS

Dado que se recomienda el consumo de leche materna hasta los dos años y no hay variación en la composición nutrimental a partir del primer mes de lactancia, entonces otros componentes bioactivos, como la leptina, insulina y resistina siguen presentes en etapas posteriores a los seis meses de lactancia.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivos Generales

- Realizar el análisis de la composición nutrimental y de componentes bioactivos en la leche humana en diferentes etapas de lactancia.

4.2. Objetivos Particulares

- Estandarización de la toma de muestra de leche.
- Evaluar las características maternas y hábitos de consumo en las mujeres de estudio.

5. METODOLOGÍA

Este protocolo fue aprobado por los Comités de Ética y de Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y la Secretaría de Salud de la Ciudad de México (Anexo 1).

La recolección de muestra inicia con el reclutamiento del Sujeto Experimental (SE) en cualquier etapa de lactancia, quien firma una carta de consentimiento informado (Anexo 2) para aceptar su participación en el protocolo. Para realizar la toma de muestra de sangre se solicita a la SE ayuno mínimo de seis horas, posteriormente se aplica un cuestionario para recabar información sobre la historia clínica y se toman las medidas antropométricas de la SE (peso corporal y talla). También, se solicita a la SE no haberle dado de comer al bebé de un seno al menos una hora y media previo a la toma de muestra de leche; transcurridos 30 minutos de la toma de muestra de sangre, con ayuda de una bomba de extracción eléctrica, se lleva a cabo la recolección de muestra de leche de un seno hasta “vaciarlo completamente”. Las tomas de muestra únicamente se llevan a cabo en un horario de 7 a 10 de la mañana. Las muestras de sangre se utilizaron en otra vertiente de esta investigación y no se incluyen en el siguiente trabajo.

5.1. Población de estudio

Se conforma por 101 Sujetos Experimentales (SE), 26 de ellas se encuentran en etapas posteriores a los seis meses. Se divide en periodos que corresponden a las SE de todas las etapas de lactancia y, se realiza un desglose en las etapas posteriores a los seis meses. Los periodos en los que se divide la población de estudio en todas las etapas de lactancia son: menos de cuarenta y ocho horas (<48h), primera semana (1° S), de uno a dos meses (1-2M), tres meses (3M), de cuatro a cinco meses (4-5M) y mayor a seis meses (>6M). Para las etapas posteriores a los seis meses se desglosan los siguientes periodos: de seis a siete meses (6-7M), de ocho a once meses (8-11M) y mayores a un año (>1 año).

5.2. Reclutamiento de Sujeto Experimental

En el Hospital Materno Infantil Magdalena Contreras se llevaron a cabo el reclutamiento y toma de muestras de los SE y, únicamente la toma de muestra en la Unidad de Pacientes Ambulatorios (UPA) del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Para ser consideradas como sujeto de investigación en el protocolo, las mujeres interesadas deben cumplir con los siguientes requisitos: ser mayores de edad y en el momento de la invitación y participación ser una mujer lactante; en el caso de aquellas candidatas que tengan pocas horas de haber parido, es necesario que el tiempo mínimo de nacimiento del niño sea de 24 horas.

El reclutamiento en el área de hospitalización se hace la invitación para participar en el estudio a cada una de las mujeres que se encuentra instalada en una de las camas del lugar. De una manera respetuosa, amable y no invasiva se explica brevemente en qué consiste el estudio para finalmente preguntar si desean participar en él, cabe destacar que en ese momento ellas se encuentran extremadamente sensibles e irritables debido a varias causas como el trabajo de parto y en algunos casos complicaciones que se presentaron en la madre y/o el hijo, no ver a sus familiares después del ingreso al hospital, no comer durante varias horas después del parto, el constante chequeo médico, aplicación de medicamentos y tomas de muestra de sangre para análisis, el bombardeo de información por parte de las trabajadoras sociales y de alguna otra institución externa al hospital, pocas horas que duermen, entre otras. También la invitación se hace a las mujeres que acuden al hospital para la prueba del tamiz metabólico² durante la primera semana de vida del bebé.

² “Es una prueba preventiva obligatoria que se realiza a todos los recién nacidos en México para detectar padecimientos de tipo congénito o metabólico que consiste en tomar una muestra de sangre del talón del recién nacido en los primeros 2 a 5 días después del nacimiento. Las enfermedades que se pueden identificar son: hipotiroidismo congénito, galactosemia, fenilcetonuria, hiperplasia suprarrenal congénita y deficiencia de biotinidasa”. *Secretaría de Salud (2015). Tamiz metabólico neonatal y auditivo.* <https://www.gob.mx/salud/articulos/tamiz-metabolico-neonatal-y-auditivo>

Debido al inconstante reclutamiento de SE, se abre una convocatoria por medio de redes sociales a través del portal de internet, perfil de Facebook® y Twitter® del INCMNSZ. El cartel (Anexo 3) contiene información sobre los requisitos, beneficios de participar en el estudio, un número telefónico y una página en Facebook® creada por el personal que labora en el protocolo para mayor información y programación de citas. Las citas se programan a domicilio o en un consultorio de la UPA dentro del INCMNSZ.

5.3. Firma de consentimiento informado

En la carta de consentimiento informado se incluyen la invitación para participar en el protocolo, la razón del estudio, el procedimiento de la toma de muestra y los posibles riesgos que se presenten durante su participación. La SE firma esta carta para aceptar su participación en el protocolo.

5.4. Obtención de la muestra de sangre

La toma de muestra de sangre es realizada por personal capacitado por medio de una extracción a vacío recolectando la muestra en un *Tube BD Vacutainer® para Suero con Activador de Coagulación* hasta obtener un volumen de 6 ml, a la par se lleva a cabo el vaciado de información en el formato “Muestra de sangre de la madre” (Anexo 4); la muestra se lleva a refrigeración (4°C) para posteriormente centrifugar a 2000 RPM durante 15 minutos, se realiza la separación del suero en alícuotas y se conserva hasta su posterior análisis a -70°C. En este estudio no se realiza algún análisis a las muestras de sangre pero sí en otras vías de investigación dentro del grupo.

5.5. Aplicación de cuestionario

El cuestionario (Anexo 4) que se aplica comienza con la sección de “Historia clínica” y se divide en 5 partes: Datos personales, Antecedentes generales, Historia obstétrica, Recién nacido y Uso de anticonceptivos/suplementos actualmente. Al término, se realiza la medición antropométrica por duplicado de la SE comenzando con la talla utilizando un estadímetro de la marca *SECA*® y posteriormente le pedimos a la SE que se descalce y sin algún accesorio de metal suba a la báscula de la marca *Omron*® para el correcto registro corporal. Se hace el vaciado de información en el formato “Antropometría de la madre” (Anexo 4).

5.6. Obtención de la muestra de leche

Transcurridos 30 minutos a partir de la toma de muestra de sangre, se prosigue con la extracción de la leche del seno materno. La recolección se realiza con la bomba de extracción eléctrica para leche materna *Lactina*® de la marca *Medela* y, los accesorios utilizados previamente se esterilizaron en autoclave de vapor a 121°C durante 20 minutos. Para la elección del seno donde se toma la muestra, se pregunta a la SE de cuál seno ofreció leche al bebé por última vez para recolectar la muestra del lado contrario, y la hora aproximada de la última ocasión en que se ofreció la leche del seno del cual se extrae la muestra. Con una gasa húmeda de agua destilada la SE realiza una limpieza del seno donde se extraerá la muestra, al secar se coloca la copa del tamaño adecuado (la cual se elige con base al tamaño y forma del seno y pezón) en ese mismo seno procurando que el pezón quede justo en medio de ella, esto para que pueda moverse libremente al momento de succión y la extracción sea exitosa. El inicio de la toma comienza con la estimulación del seno, la cual se logra utilizando la velocidad mínima de succión de la bomba y, se considera el inicio de la extracción en cuanto sale la primera gota de leche. No existe un tiempo definido entre la estimulación y la extracción, ya que esto depende principalmente del tiempo que ha pasado desde la última toma que realizó el bebé del seno donde se toma la muestra, entre mayor sea el tiempo que transcurrió es menor el tiempo que se necesita para la salida de la leche.

No hay un tiempo específico para realizar la extracción de leche, pero el tiempo máximo de succión es de 15 minutos (a partir de la estimulación). Para las SE que se encuentran en las primeras horas de lactancia, el tiempo máximo de succión se reduce para evitar lastimar el pezón. Para asegurar la recolección de la primera, media y última fracción de la leche se lleva en práctica el término “vaciar el seno completamente”, esto consiste en llegar al punto de la extracción donde la leche que sale comienza a hacerlo de forma decreciente hasta reducirse a un goteo, en donde el tiempo de salida entre cada gota va aumentando o definitivamente ya no hay más flujo de leche. Es importante tener en cuenta que el seno nunca se vacía en su totalidad ya que es capaz de producir leche continuamente, así que es necesario observar desde el inicio de la extracción el ritmo y forma de eyección de la leche, para identificar el momento adecuado y detener la extracción (esto varía entre cada mujer). De manera general, se han identificado tres patrones en el flujo de eyección de la leche. En el primer patrón, se encuentran las mujeres que después de salir la gota inicial comienzan con un flujo moderado y va en aumento conforme avanza la extracción, después de ciertos minutos el flujo decrece y la leche sale a goteo constante hasta que, el lapso de tiempo entre cada gota que va cayendo al recolector es mayor y se presenta el paro total del flujo. El segundo patrón lleva un ritmo constante durante toda la toma de muestra hasta llegar al punto donde el flujo decrece y la leche gotea. En el tercer patrón se presenta una alternancia en la salida de leche en repetidas ocasiones durante la extracción, esto se refiere a que comienza con una salida constante y de forma inesperada el flujo disminuye notablemente, pero al continuar con la succión regresa al ritmo inicial.

Antes de detener la bomba de extracción porque el flujo de leche comienza a decrecer le pedimos a la SE que, con la mano contraria al seno del cual se está tomando la muestra, comience a dar un suave pero firme masaje en forma circular con los dedos índice, medio y anular desde fuera hacia dentro del seno y enseguida, realizar un movimiento desde la parte superior del seno hasta llegar a la areola simulando jalar la leche con las yemas de sus dedos, esto para conseguir relajar el seno y ayudar a que la leche que aún se encuentra en el pecho salga de una manera más rápida y efectiva. Para detener la extracción en el momento correcto, es

necesario esperar al menos 1 minuto y medio a partir de que se presenta la disminución del flujo y observar si nuevamente aumenta o se mantiene constante. Si el poco flujo continúa, significa que se está extrayendo la última fracción de leche que se encuentra en el seno y es el tiempo justo de parar la succión. Una vez terminada la extracción, la SE quita la copa de su seno y se limpia con una gasa húmeda con agua destilada. Con ayuda del recipiente donde se recolecta la leche, el cual cuenta con una graduación en onzas (oz) y en mililitros (ml), se determina la cantidad de volumen que se extrajo para anotar la cantidad total en el formato “Muestra de leche de la madre” (Anexo 4) para posteriormente separar la muestra en alícuotas de 1.5 ml y conservarlas a -70°C hasta su análisis.

5.7. Análisis de muestras

Las muestras se almacenan a una temperatura de -70°C hasta su análisis, el proceso de descongelación de las alícuotas es lento y comienza exponiendo la muestra a una temperatura de -4°C durante 2 horas, pasado ese lapso de tiempo se cambia a temperatura de refrigeración por 1 hora. Para concluir, se dejan a temperatura ambiente durante 15 minutos.

5.7.1. Determinación de agua

La determinación se realiza por el método de secado de estufa, el cual se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación de agua hasta obtener un peso constante (Nollet, 1996).

El análisis se realiza por triplicado. Se utilizan 150 microlitros (μl) de leche que se colocan en una charola de aluminio, puesta previamente a peso constante, se pesan en una balanza analítica. Se coloca la charola con la muestra en la estufa a una temperatura de 69°C y después de 24 horas nuevamente pesar hasta alcanzar su peso constante. El contenido de agua es determinado por gravimetría.

5.7.2. Determinación de proteína

La cuantificación de proteína total se determina por el método de Bradford con algunas modificaciones. El método se basa en la unión específica del colorante azul de Coomassie brillante G250 (CBBG) a los residuos de Arg, Trp, Tyr, His y Phe de las proteínas. El CBBG se une a los residuos de las proteínas produciendo una absorbancia máxima de 595 nm (Bradford, 1976).

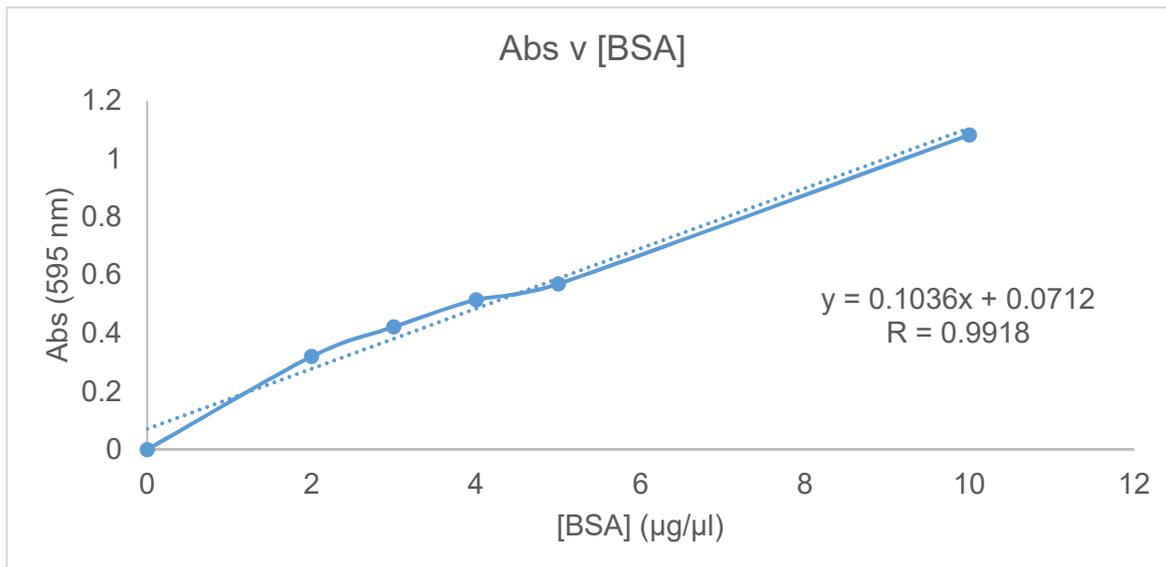
5.7.2.1. Curva Patrón de Albúmina de Suero Bovino (BSA)

En primer lugar se prepara el reactivo de Bradford utilizando una mezcla de reactivo *Bradford Protein Assay* de BioRad®/Agua bidestilada (1:5). Se agita vigorosamente y cubre con papel aluminio el recipiente en donde se elaboró. La cantidad a preparar dependerá de las muestras procesadas ya que el reactivo se prepara al momento de la determinación.

Tabla 1. Curva Patrón Bovin Serum Albumin (BSA) para la determinación de proteína por el método de Bradford.

Volumen B (µl)	[µg/ml] BSA
0	0
5	2
7.5	3
10	4
12.5	5
25	10

Gráfico 1. Curva patrón para la cuantificación de proteína en leche humana.



Se parte de una solución estándar de Albúmina de Suero Bovino con concentración de 10 mg/ml y se prepara una alícuota de 1 ml con concentración de 1 mg/ml, a partir de ella se prepara otra alícuota de 200 μl con una concentración de 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$. El volumen correspondiente de BSA (Tabla 1) se coloca en la placa y se realiza el procedimiento por duplicado, posteriormente se agregan 200 μl del reactivo de Bradford en cada pozo y se cubre la placa con papel aluminio, se deja actuar durante 10 minutos. Leer a una absorbancia de 595 nm. Con base a los resultados de absorbancia detectada, realizar una corrección del blanco y una regresión lineal para obtener la ecuación de la curva (Gráfico 1).

5.7.2.2. Preparación de muestras

Debido a que la concentración de proteína en la leche varía durante la lactancia, se ajusta a diferentes diluciones de acuerdo a la etapa de lactancia a la que pertenece la muestra. Se prepara 1 ml de la dilución correspondiente (Tabla 2) y se agita vigorosamente. El procedimiento se hace por triplicado.

Se centrifugan las diluciones a 14,000 RPM durante 10 minutos a una temperatura de 4 °C. Se separa la fase superior. Se toman 10 µl de muestra, se coloca en la placa y se añaden 200 µl de reactivo Bradford. La placa se cubre con papel aluminio y deja actuar por 10 minutos. Leer a una absorbancia de 595 nm. La concentración de proteína se reporta en gramos/100ml.

Tabla 2. Diluciones de acuerdo a la Etapa de Lactancia.

Etapa	Dilución
Mayor a 1 mes	1:20
1° Semana a 1 mes	1:50
Calostro (72 horas)	1:100

5.7.3. Determinación de grasa

La determinación se realiza por el método de Folch (Folch, Less, & H., 1957), el cual se basa en la extracción de lípidos totales por medio de la homogenización entre la mezcla de solventes y la muestra, y para separar las sustancias no lipídicas se añade una sal mineral, como resultado se obtiene un sistema bifásico donde la fase inferior contiene el total de lípidos.

El análisis se realiza por triplicado. Se utilizan 200 µl de leche que se colocan en un tubo de ensayo puesto previamente a peso constante, se les añaden 5.4 ml de una mezcla de Cloroformo/Metanol (2:1) y 1.8 ml de cloruro de sodio (NaCl) al 0.7%, se agita vigorosamente y se centrifuga durante 15 minutos a 2000 RPM a una temperatura de 4°C; al finalizar este paso se extrae cuidadosamente la fase superior y la fase inferior se transfiere a un tubo de ensayo puesto previamente a peso constante. Los tubos se colocan en un baño sin agitación a 60°C en una campana de extracción para evaporar la mezcla de solventes durante 2 horas, posteriormente

se retiran del baño y continúan en la campana de extracción durante 15 minutos más. Transcurrido este tiempo, se pesan en la balanza analítica cada uno de los tubos y se colocan nuevamente en la campana de extracción, después de 24 horas nuevamente se pesan hasta alcanzar su peso constante. Los gramos de grasa/100ml son determinados por gravimetría.

5.7.4. Determinación de triglicéridos

La cuantificación de la concentración de triglicéridos se realiza por medio de un método colorimétrico utilizando el kit de *Triglicéridos* Catálogo# TR 213, adquirido de *Randox Laboratories Limited*®, Crumlin, Reino Unido. Los reactivos utilizados fueron almacenados en refrigeración (2-8° C) después de recibidos. El método se basa en la hidrólisis enzimática con lipasas, el indicador es una quinoneimina formada a partir de peróxido de hidrógeno 4-amino-fenazona y 4-clorofenol bajo la influencia catalítica de la peroxidasa.

A partir del tubo que se utilizó en la determinación de Folch se realiza la extracción de grasa. Se agregan 2 ml de Isopropanol + Tritón al 10%, se agita vigorosamente, y el reactivo se deja actuar por 2 días a una temperatura de 4°C para llevar a cabo una mejor extracción. Transcurrido ese tiempo, la grasa extraída se almacena en viales previamente etiquetados.

Posteriormente se reconstituye un vial de Reactivo de enzima (R1b) con un pequeño volumen de Tampón (R1a) y después se transfiere todo el contenido al frasco R1a, el vial R1b se enjuaga 3 veces y se mezcla en agitación constante durante 20 minutos a velocidad media. En un tubo de ensayo se colocan 10 µL de leche y se agrega 1 ml del reactivo reconstituido, se agita vigorosamente para mezclar. Se toman 300 µL de esa mezcla y se coloca en el pozo. Se lee a una absorbancia de 546 nm. Para realizar el cálculo, se utilizan los valores de la absorbancia de la muestra y el patrón frente al reactivo, multiplicando por un factor para obtener la concentración de triglicéridos.

5.7.5. Determinación de leptina, insulina y resistina.

Para la cuantificación se utiliza el kit *Bio-Plex Pro™ Diabetes Assay Panels* Catálogo# 171^a7001M, adquirido de *Bio-Rad Laboratories, Inc®*, California, E.U. El fundamento consiste en un análisis basado en perlas magnéticas, disponibles como paneles premezclados que rápidamente (en tres horas) detectan biomarcadores de diabetes y obesidad. El análisis se realiza por duplicado.

5.8. Análisis Estadístico

Todos los datos se presentan como la media \pm error estándar. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando análisis de varianza (ANOVA) de una vía siguiendo la prueba de Tukey, según corresponda con una significancia de $p < 0.05$, el cual se considera estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó utilizando la versión 11.0 de Sigma Plot.

6. RESULTADOS

Se presentan algunos de los resultados obtenidos del cuestionario aplicado. No todas las preguntas presentes en el cuestionario se incluirán en los resultados.

En la Figura 1 se presentan los rangos de edad de las Sujetos Experimentales (SE), en donde se observa que el mayor porcentaje de la población de estudio se encuentra en un rango de edad de 28 a 32 años. El número de hijos del total de las SE va desde uno hasta seis, en donde el mayor porcentaje de ellas (62%) tiene un hijo, así como las SE que corresponden a etapas posteriores a los seis meses (81%) (Figura 2).

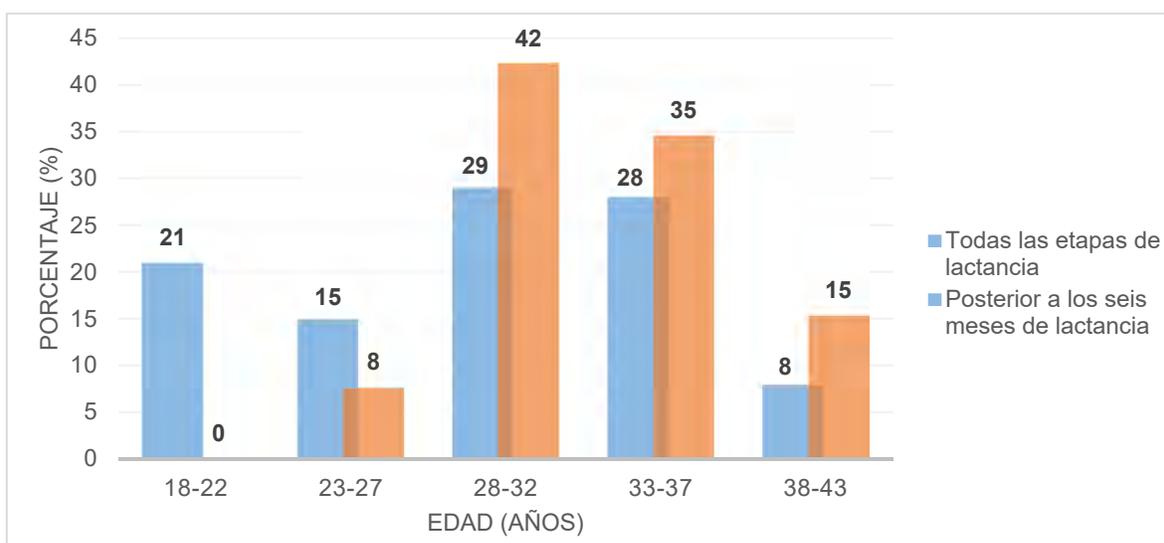


Figura 1. Rangos de edad del total de la población de SE en cualquier etapa de lactancia (N=101) y de SE en etapas posteriores a los seis meses de lactancia (N=26)

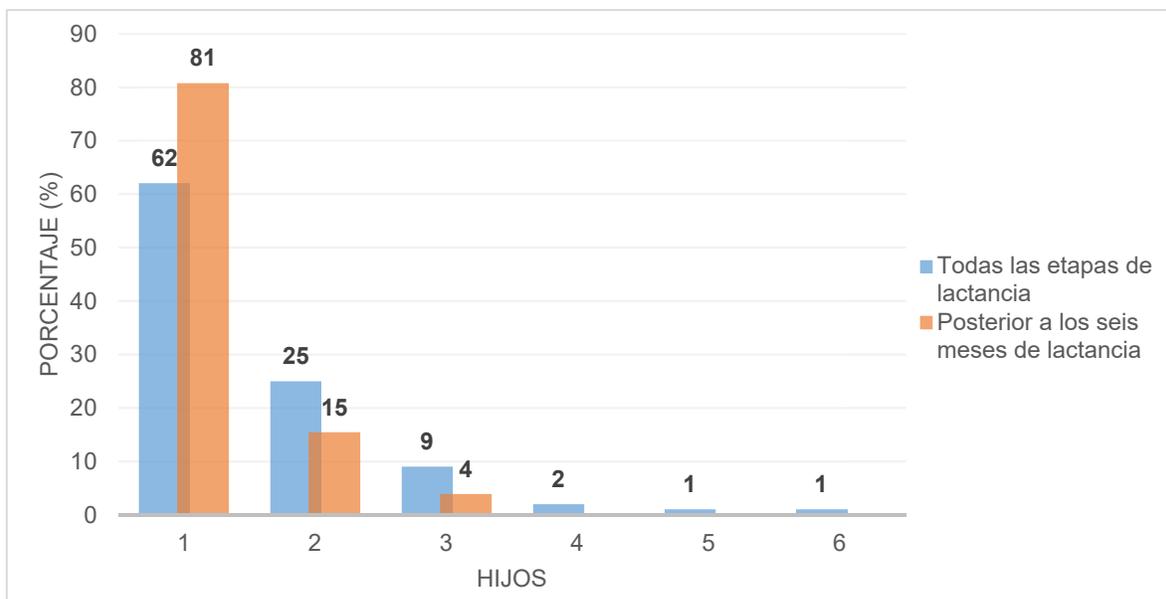


Figura 2. Número de hijos del total de la población de SE en cualquier etapa de lactancia (N=101) y de SE en etapas posteriores a los seis meses de lactancia (N=26)

En los resultados de la Tabla 3 se presentan los hábitos de consumo (%) de alcohol, tabaco y café antes y durante el embarazo. El porcentaje de consumo de café antes y durante el embarazo de la población de estudio es mayor respecto al que se tiene por el alcohol y tabaco. La reducción del consumo de alcohol entre las SE de todas las etapas de lactancia y las que se encuentran en etapas posteriores a los seis meses es prácticamente la misma (72% y 71%, respectivamente). A diferencia de las SE que corresponden a todas las etapas de lactancia, el 100% de las SE de etapas posteriores a los seis meses dejaron de fumar durante el embarazo. La reducción de consumo de café durante el embarazo es mayor en las SE en etapas posteriores a los seis meses.

Tabla 3. Hábitos de consumo (%) de alcohol, tabaco y café de las SE en todas las etapas de lactancia (N=101) y de SE en etapas posteriores a los seis meses de lactancia (N=26).

	TODAS LAS ETAPAS DE LACTANCIA		POSTERIOR A LOS SEIS MESES DE LACTANCIA	
	ANTES	DURANTE	ANTES	DURANTE
	%	%	%	%
ALCOHOL	53	15	65	19
TABACO	28	6	23	0
CAFÉ	84	71	73	50

Tabla 4. Rango de Peso corporal (kg) e Índice de Masa Corporal (IMC) pre-gestacional y a los tres meses (3M) de lactancia. N= 32

	Pre-gestacional	3 Meses (3M)
Peso (kg)	43 - 78	42.9 – 80.6
IMC	18.1 - 31.5	18.3 – 32.5

El registro del rango de peso corporal e Índice de Masa Corporal (IMC) pre-gestacional y a los tres meses de lactancia (3M), se presentan en la Tabla 4. Se tomaron 3 y 5 kg de peso mayor al pre-gestacional como rango máximo de valor de aceptación para indicar que las mujeres habían regresado al peso corporal que tenían antes de su embarazo. Se encontró que el 28% de las SE tuvieron un peso corporal no mayor a 3 kg y el 41% a 5 kg. Con base en la clasificación del IMC establecido por la OMS (OMS, 2017), las mujeres antes de embarazarse se

encontraban al límite del intervalo de IMC normal (25), y a los 3M de lactancia presentan un IMC dentro del rango para sobrepeso (25-29.9). El 41% de las SE a los 3M mostró un valor de IMC igual o menor al pre-gestacional.

Tabla 5. Suplementos ingeridos por la población de estudio durante el embarazo.

SUPLEMENTO	TODAS LAS ETAPAS DE LACTANCIA (%)	POSTERIOR A LOS SEIS MESES DE LACTANCIA (%)
Multivitamínico	74	96
Hierro	18	12
Ácido Fólico	78	65
Sulfato Ferroso	29	8
Calcio	17	12

El registro de los suplementos que las SE tomaron durante el embarazo se encuentra en la Tabla 5. Los suplementos más consumidos son el multivitamínico y ácido fólico. El total de las SE consume en primer lugar el ácido fólico y en segundo el multivitamínico, el porcentaje entre los dos es muy similar (78% y 74%, respectivamente); mientras que las SE de etapas posteriores a los seis meses, el ácido fólico tiene 65% de consumo y el multivitamínico tiene un porcentaje de 96%, muy por encima del resto de los minerales. Los 3 minerales restantes presentan poco porcentaje en su consumo ya que están incluidos dentro del multivitamínico.

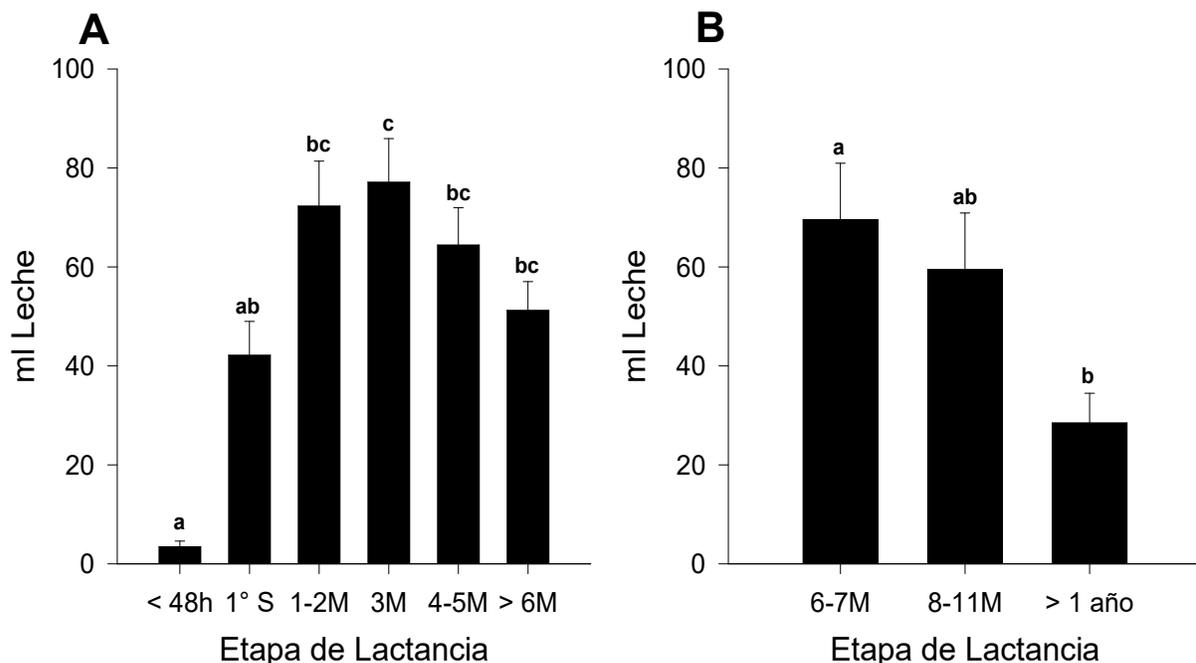


Figura 3. Cantidad de leche obtenida de un seno en diferentes periodos de lactancia: Todas las etapas de lactancia (A) y Posterior a los seis meses de lactancia (B). Datos expresados como la media \pm error estándar; n: <48h= 9, 1° S= 27, 1-2M= 28, 3M= 35, 4-5M= 28, >6M= 56, 6-7M= 20, 8-11M= 16, >1 año= 21. Las letras representan la diferencia significativa entre los grupos experimentales, $p < 0.05$.

Los resultados de la cantidad de leche obtenida de un seno se muestran en la Figura 3. De las primeras 48h a la 1° S se observa una diferencia notable en la cantidad de leche obtenida, durante estos días ocurre la “bajada de la leche”. A partir de ese momento hasta los 3M, se observa un incremento en el volumen de leche, siendo este periodo el pico máximo de producción de leche y posterior a esta etapa la cantidad de leche obtenida comienza a decrecer (Figura 3A). La producción en la etapa de lactancia <48h presenta una diferencia significativa con las etapas posteriores a la primera semana. Después de los seis meses la cantidad de leche producida va disminuyendo conforme avanza la lactancia debido a que los bebés de entre cinco y seis meses comienzan con la ablactación y la madre reduce la cantidad de tomas al día (Figura 3B). Se observa una diferencia significativa en la producción de leche entre las etapas 6-7M y > 1 año.

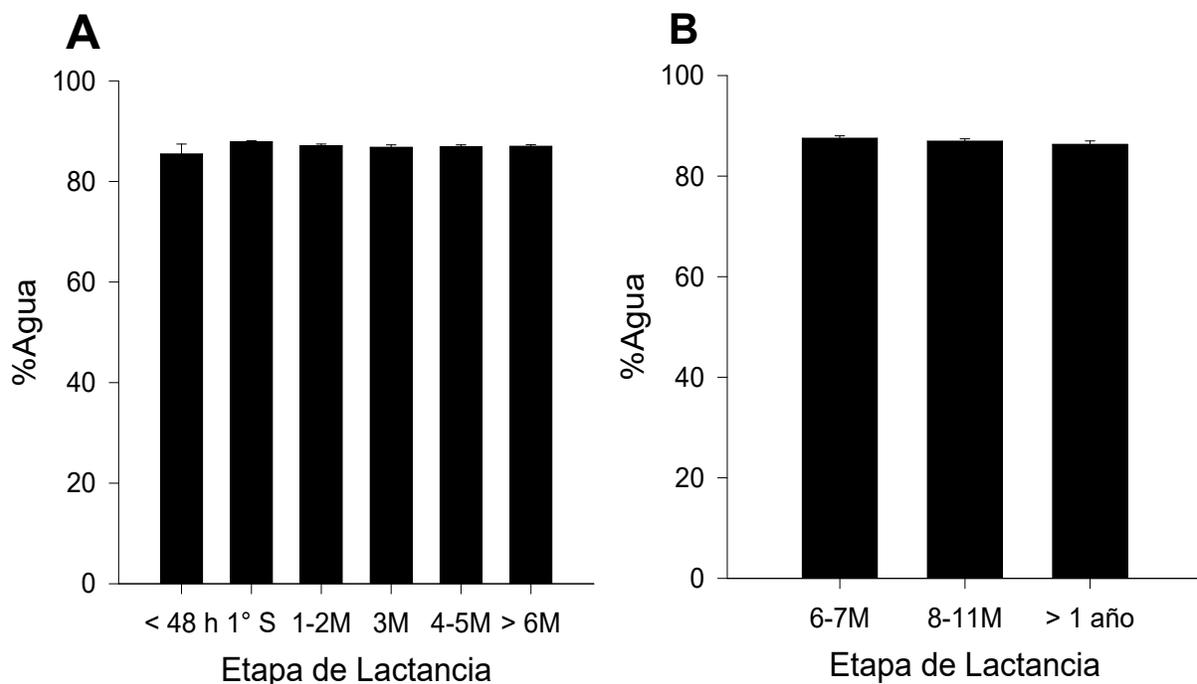


Figura 4. Cantidad de Agua (%) en leche materna humana en diferentes periodos de lactancia: Todas las etapas de lactancia (A) y Posterior a los seis meses de lactancia (B). Datos expresados como la media \pm error estándar; n: <48h= 9, 1° S= 27, 1-2M= 28, 3M= 35, 4-5M= 28, >6M= 56, 6-7M= 20, 8-11M= 16, >1 año= 21. Las letras representan la diferencia significativa entre los grupos experimentales, $p < 0.05$.

En la Figura 4 se presentan los resultados obtenidos de la cantidad de agua (%) en leche materna a diferentes etapas de lactancia. Se observa que durante toda la lactancia su porcentaje se mantiene constante y no presenta diferencia significativa en ninguno de los dos grupos (Figura 4A y 4B).

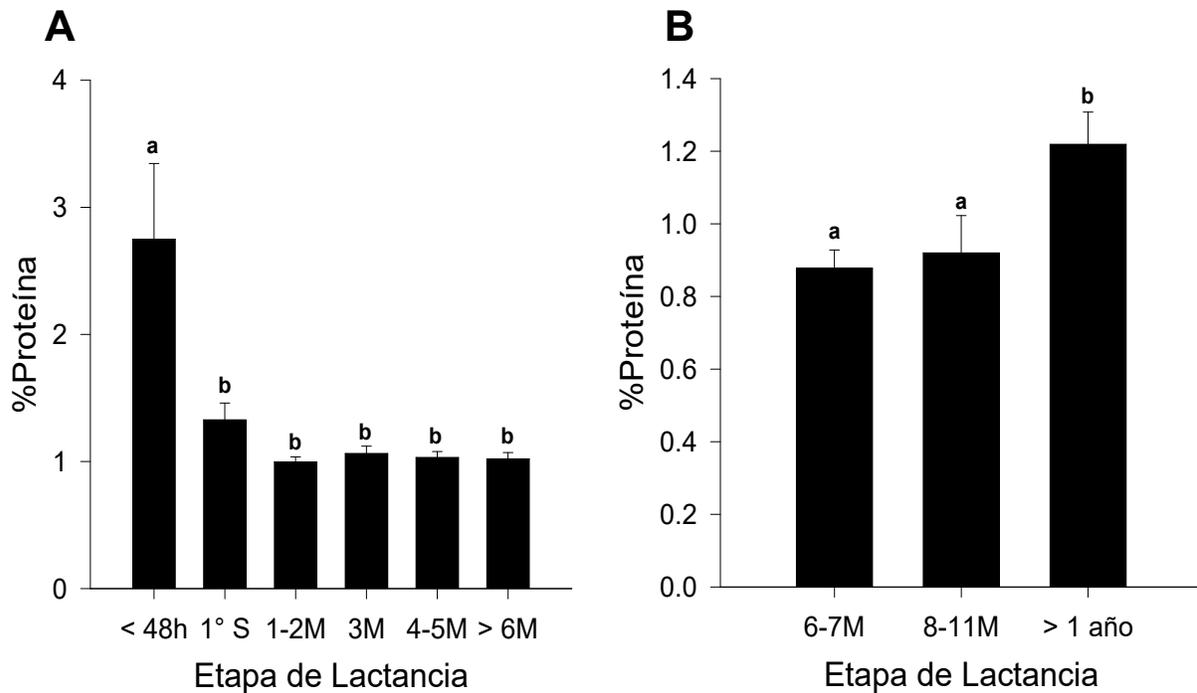


Figura 5. Concentración de Proteína (%) en leche materna humana en diferentes etapas de lactancia: Todas las etapas de lactancia (A) y Posterior a los seis meses de lactancia (B). Datos expresados como la media \pm error estándar; n: <48h= 9, 1° S= 27, 1-2M= 28, 3M= 35, 4-5M= 28, >6M= 56, 6-7M= 20, 8-11M= 16, >1 año= 21. Las letras representan la diferencia significativa entre los grupos experimentales, $p < 0.05$.

La concentración de proteína en leche humana en diferentes etapas de lactancia se observa en la Figura 5. La concentración de proteína durante las primeras horas de lactancia es más alta comparada con las demás etapas, a partir de la primera semana (1° S) disminuye y se mantiene constante durante toda la lactancia (Figura 5A). A partir de los seis meses, la concentración de proteína aumenta conforme avanza la lactancia. Hay una diferencia significativa entre la concentración de proteína en la leche producida después de un año de lactancia y la obtenida a los 6-7M y 8-11M de lactancia (Figura 5B).

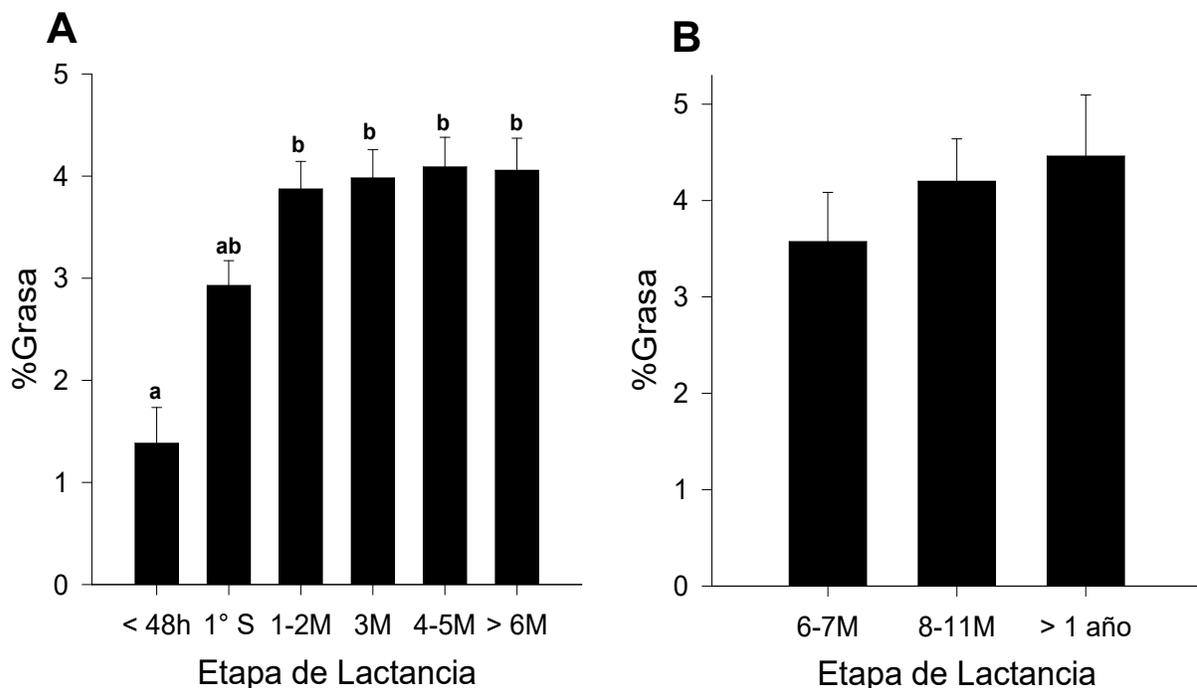


Figura 6. Concentración de Grasa (%) en leche materna humana en diferentes periodos de lactancia: Todas las etapas de lactancia (A) y Posterior a los seis meses de lactancia (B). Datos expresados como la media \pm error estándar; n: <48h= 9, 1° S= 27, 1-2M= 28, 3M= 35, 4-5M= 28, >6M= 56, 6-7M= 20, 8-11M= 16, >1 año= 21. Las letras representan la diferencia significativa entre los grupos experimentales, $p < 0.05$.

Conforme avanza la lactancia, la concentración de grasa aumenta (Figura 6). Se distinguen tres cambios importantes (Figura 6A): el primero en la etapa <48h, el segundo en la 1° S y el tercero a partir del primer mes (1-2M). Entre las etapas <48h y 1° S la concentración de grasa se duplicó, entre las etapas 1° S y 1-2M el incremento fue menor al 1% y, posterior a la etapa 1-2M no cambia la concentración. El porcentaje de grasa durante las primeras horas postparto (<48h) es diferente a las demás etapas a excepción de la 1° S. Después de los seis meses de lactancia (Figura 6B) se observa que la concentración de grasa aumenta y no hay diferencia significativa entre los periodos posteriores.

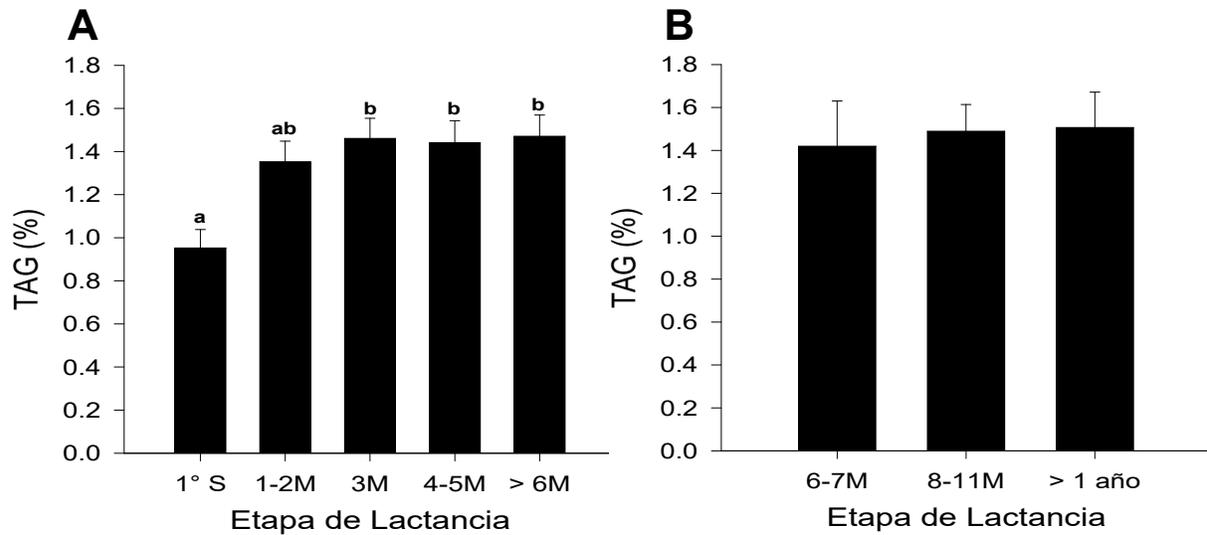


Figura 7. Concentración de Triglicéridos (TAG) (%) en leche materna humana en diferentes periodos de lactancia: Todas las etapas de lactancia (A) y Posterior a los seis meses de lactancia (B). Datos expresados como la media \pm error estándar; n: <48h= 9, 1° S= 27, 1-2M= 28, 3M= 35, 4-5M= 28, >6M= 56, 6-7M= 20, 8-11M= 16, >1 año= 21. Las letras representan la diferencia significativa entre los grupos experimentales, $p < 0.05$.

En la Figura 7 se presentan los resultados de la concentración de triglicéridos (TAG) de la leche materna. La etapa <48h no se incluye debido a la insuficiente muestra para realizar el análisis. Al igual que en la Figura 6, en la Figura 7 se observa que el porcentaje de TAG aumenta conforme avanza la lactancia y se distinguen tres cambios importantes respecto a la concentración en las etapas de 1° S, 1-2M y 3M (Figura 7A). En la etapa de 1-2M la concentración de TAG es cercana al doble respecto a 1° S, aumenta ligeramente de la etapa 1-2M a los 3M y, a partir de los 3M el porcentaje de TAG se mantiene constante. El porcentaje de TAG en la primera semana de lactancia (1° S) es diferente a las demás etapas a excepción de 1-2M. Después de los seis meses de lactancia (Figura 7B) se incrementa la concentración de TAG y permanece constante, no hay diferencia significativa después de este periodo.

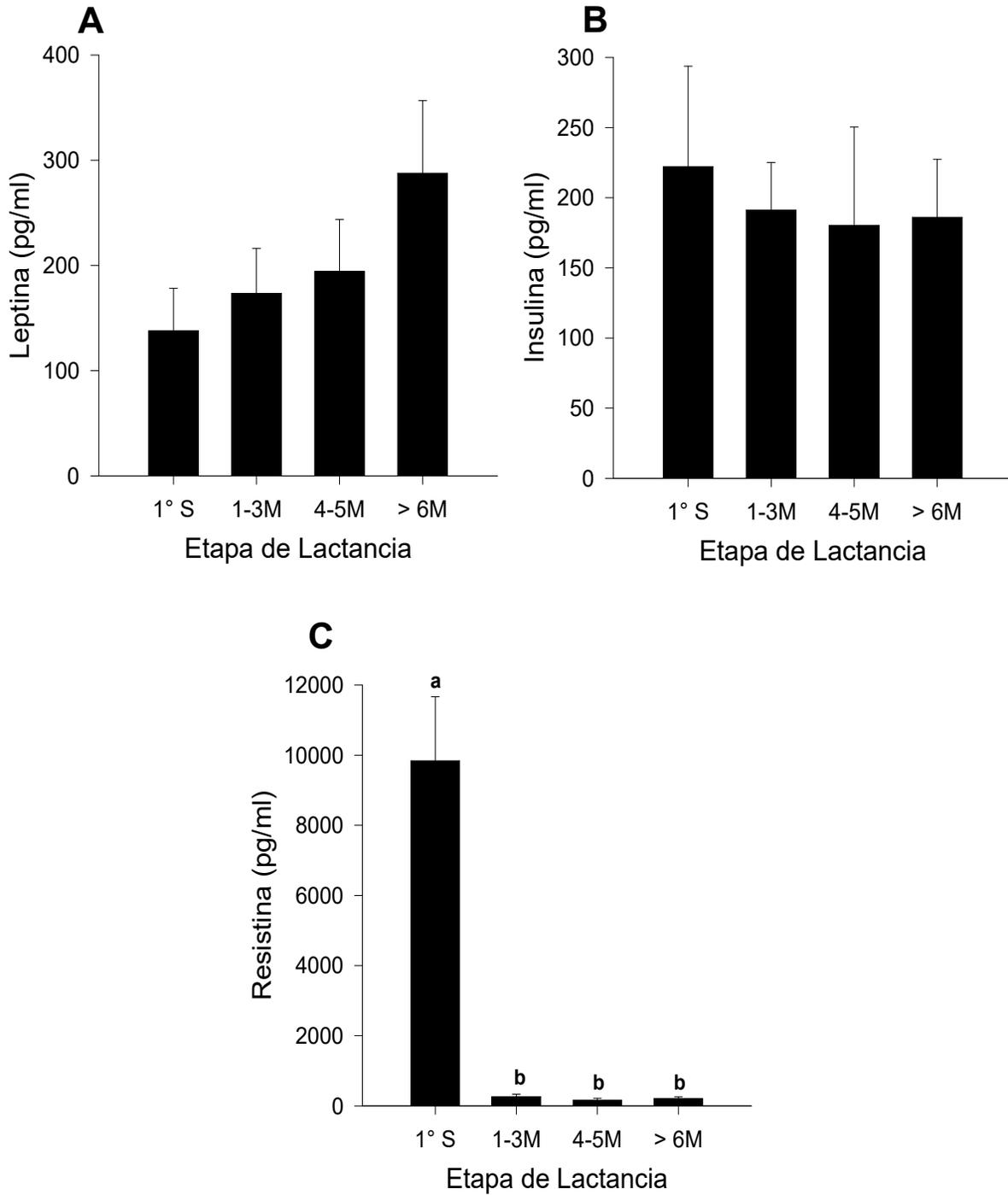


Figura 8. Concentración de Leptina, Insulina y Resistina (pg/ml) en leche materna humana en diferentes periodos de lactancia. Leptina (A), Insulina (B) y Resistina (C). Datos expresados como la media \pm error estándar; n: 1° S= 11, 1-3M= 18, 4-5M= 6, >6M= 4. Las letras representan la diferencia significativa entre los grupos experimentales, $p < 0.05$.

Los resultados de las concentraciones de leptina, insulina y resistina en la leche materna en diferentes etapas de lactancia se muestran en la Figura 8. Conforme la lactancia avanza, la concentración de insulina y resistina disminuyen, mientras que la concentración de leptina aumenta. Sin embargo, no hay diferencia significativa entre las concentraciones de leptina e insulina en las diferentes etapas de lactancia (Figura 8A y 8B); la concentración de resistina durante la primera semana (1° S) es mayor comparada con la de otras etapas de lactancia (Figura 8C).

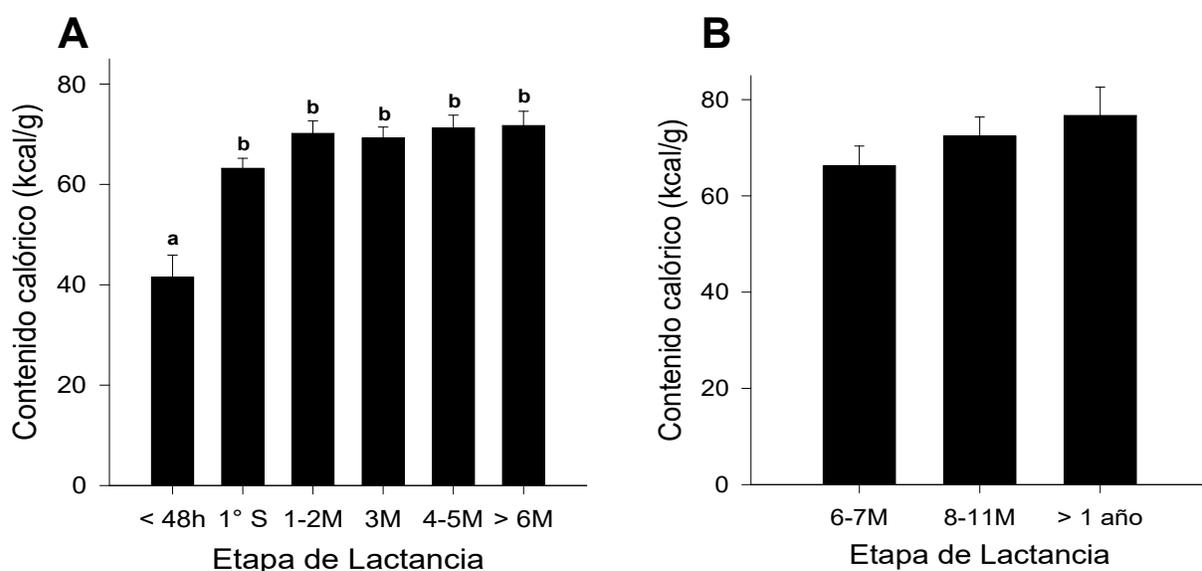


Figura 9. Contenido calórico (kcal/g) en leche materna humana en diferentes periodos de lactancia: Todas las etapas de lactancia (A) y Posterior a los seis meses de lactancia (B). Datos expresados como la media \pm error estándar; n: <48h= 9, 1° S= 27, 1-2M= 28, 3M= 35, 4-5M= 28, >6M= 56, 6-7M= 20, 8-11M= 16, >1 año= 21. Las letras representan la diferencia significativa entre los grupos experimentales, $p < 0.05$.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Una buena alimentación desde el inicio de la vida determina de manera inexorable la salud futura y el desarrollo de los individuos y, por tanto, el de las naciones a las que éstos pertenecen. Los riesgos a la salud asociados con una alimentación infantil deficiente derivan en un elevado costo en morbilidad, mortalidad y recursos económicos para las familias, los gobiernos y la sociedad en general (González de Cosío Martínez & Hernández Cordero, 2016).

En la lactancia posterior a los seis meses, los infantes siguen obteniendo beneficios por el consumo de la leche materna junto con los primeros alimentos sólidos que ingresan a su dieta ya que complementa tanto el aspecto nutricional y además es una estimulación para el desarrollo facial del niño el cual termina hacia los dos años de edad, consiguen un mejor desarrollo intelectual cognitivo, y alimentados al pecho se favorecen las relaciones de apego seguro (Ministerio de Salud de Chile, 2010). Recientes revisiones sistemáticas de estudios observacionales sugieren que la lactancia materna se asocia con una menor prevalencia de sobrepeso y de obesidad y que esta asociación era más importante en aquellos que llevaban una lactancia más larga (Rodríguez Morán, y otros, 2009).

De acuerdo con los resultados de la Encuesta Intercensal 2015 (INEGI, 2017), en México existen 48.7 millones de mujeres de 12 y más años de las cuales 67.3% ha tenido al menos un hijo vivo. Conforme avanza la edad de la mujer el porcentaje de procrear al menos un hijo aumenta, datos de esta encuesta indican que el 56.2% de las mujeres jóvenes de 20 a 29 años tiene al menos un hijo nacido vivo y el 88.7% de las mujeres de 30 y más años ya han sido madres (INEGI, 2017). Así como en las estadísticas, en este estudio el rango de edad donde se encuentra el mayor porcentaje de la población de SE es de 28 a 32 años.

La misma encuesta expresa que la probabilidad de tener un mayor número de hijos está relacionado con la edad de la mujer (INEGI, 2017), este dato puede asociarse a que la edad y el número de hijos que presentan las SE de este estudio. La edad mínima del total de las SE es de 18 y el número máximo de hijos es de

seis, mientras que la edad mínima de las SE de lactancia posterior a los seis meses es de 23 y el número máximo de hijos son tres. En este estudio los resultados obtenidos indican que existe un mayor porcentaje de SE totales y con lactancia posterior a los seis meses que tienen un hijo; de acuerdo con datos del INEGI, el porcentaje de las madres jóvenes de 20 a 29 años con un solo hijo es de 46.5% y, el de las madres de 30 a 49 años es de 15.6% (INEGI, 2017).

En este trabajo se incluyen los hábitos de consumo de alcohol, tabaco y café antes y durante el embarazo debido a que si es de manera desmedida y frecuente puede causarle algún defecto congénito al bebé. En el cuestionario aplicado a las participantes se considera que la SE consumió alcohol si lo hizo al menos en una ocasión durante el embarazo. De acuerdo a los resultados obtenidos, en las SE totales y las SE de etapas posteriores a los seis meses hay un consumo bajo de alcohol (15% y 19%, respectivamente). Estas mujeres que mencionaron haber consumido alcohol únicamente lo hicieron durante las primeras semanas de embarazo ya que aún no sabían de su estado, mientras las que sí lo sabían, contestaron que bebieron esporádicamente en una o dos ocasiones en el transcurso del embarazo. Respecto a los resultados en el consumo de tabaco, durante el embarazo se presenta una reducción en el porcentaje que lo frecuentaba previo a la gestación y sobresale que el 100% de las SE que siguen alimentando al bebé después de los seis meses dejaron de fumar. El porcentaje de mujeres que llegaron a fumar estando embarazadas es menor al de las que bebieron alcohol, es posible que esta disminución se deba a que socialmente esta acción se considera como una grave irresponsabilidad por parte de la mujer embarazada. Respecto al consumo de café, fueron muy pocas mujeres que decidieron dejar de consumirlo mientras se encontraban embarazadas, es por ello que aun cuando algunas dejaron de beberlo se sigue presentando un porcentaje alto durante el estado de gestación.

De acuerdo con la OMS, el sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Uno de los indicadores más comunes que se utiliza para clasificarlos es el Índice de Masa Corporal (IMC) ya que proporciona la medida más útil para la clasificación de

sobrepeso y obesidad en la población y es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades (OMS, 2017).

Es importante considerar estos parámetros durante la etapa pre-gestacional ya que muchas mujeres inician el embarazo con un mayor peso corporal o IMC del que deberían tener, lo que aumenta la probabilidad de que la ganancia de peso durante la gestación no sea el adecuado (ya sea ganancias bajas o elevadas). Esto conlleva a incrementar riesgos como anomalías en la glucemia prenatal materna, trastornos hipertensivos y complicaciones del parto, junto a un mayor riesgo de retención de peso post-parto, obesidad incidental y secuelas cardiometabólicas adversas en mujeres en la mediana edad (Herring & Oken, 2010). Se tomaron 3 y 5 kg de peso mayor al pre-gestacional como rango máximo de valor de aceptación para indicar que las mujeres habían regresado al peso corporal que tenían antes de su embarazo ya que en estudios realizados en Guatemala, Brasil y México indican que el rango de retención de peso en el postparto es entre 1.5 y 3.1 kg entre los seis y doce meses postparto, con más de 25% de mujeres que retienen más de 4 kg (González de Cosío Martínez & Hernández Cordero, 2016). En teoría, la mayor parte del peso acumulado durante el embarazo se pierde en las primeras seis semanas postparto, sin embargo existen factores prenatales, gestacionales, postnatales, sociodemográficos y de estilo de vida que influyen en el cambio de peso durante el postparto, con la ganancia de peso como uno de los determinantes más importantes de la retención de peso en el postparto (González de Cosío Martínez & Hernández Cordero, 2016). Respecto a la ganancia de peso durante el embarazo, en el año 2009 el Instituto de Medicina (IOM) de Estados Unidos revisó las normas de ganancia de peso gestacional por primera vez desde 1990, las cuales recomiendan ganancias menores en mujeres con un mayor IMC (superior a un IMC de 30) antes del embarazo (Herring & Oken, 2010). Considerando los factores antes mencionados, para realizar la comparación del peso corporal de las SE antes y después del embarazo se utilizó como parámetro el tercer mes postparto porque es un periodo más amplio para observar si durante ese tiempo la lactancia ayuda a las mujeres a retomar su peso. Como resultado se observa que las SE lograron regresar a su peso pre-gestacional y que es posible que después de esta etapa le

resulte a las mujeres más difícil bajar de peso. A diferencia del peso corporal, el IMC a los tres meses de lactancia aumentó respecto al que presentaban antes del embarazo. Por recomendación del Instituto de Medicina (IOM), en el periodo postparto no es muy recomendable llevar a cabo correctamente el cálculo de IMC por diferentes factores (Herring & Oken, 2010).

El estado nutricional de la madre antes y durante el embarazo es uno de los factores ambientales más influyentes en el desarrollo fetal ya que el éxito de ese embarazo depende en gran medida de los buenos hábitos alimenticios que la mujer lleva a cabo desde antes de la concepción (Fernández Molina, Soriano del Castillo, & Blesa Jarque, 2016). Una alimentación equilibrada proporciona los nutrientes adecuados para favorecer el crecimiento y desarrollo del bebé, la calidad de la placenta, mantener el nivel de energía a lo largo del embarazo, parto y postparto, prevenir anemias y activar la producción de leche (UNICEF, 2013). Como es difícil evaluar la deficiencia de cada uno de estos nutrientes una buena opción es administrar un suplemento nutricional (OMS, 2014), como en el caso de las SE del estudio quienes dijeron haber tomado algún suplemento nutricional, siendo el ácido fólico y el multivitamínico los que presentan un porcentaje mayor de consumo. Para lograr prevenir anomalías congénitas es necesario que los suplementos nutricionales se empiecen a consumir antes del primer trimestre del embarazo, principalmente el hierro y ácido fólico (OMS, 2014); en las SE este inicio fue variado, pero en las etapas como el primer mes y posterior a los seis meses es cuando se presentan más recomendaciones por parte del médico para que consuman algún suplemento nutricional.

Después del parto, al expulsarse la placenta, baja bruscamente la concentración de progesterona en la sangre de la madre y se suprime la acción inhibitoria que esta hormona tiene sobre la síntesis de la leche. Las mamas se llenan de calostro durante las primeras treinta horas después del parto (Ministerio de Salud de Chile, 2010), es por esta razón que como criterio de inclusión se consideraron mujeres que llevaran más de veinticuatro horas de haber parido. Existen otros factores que pueden provocar un retraso de la lactogénesis, entre ellos se

encuentran un parto estresante, ingesta de medicamentos (como el citrato de clomifeno, piridoxina y las prostaglandinas) y el no llevar a cabo una constante y adecuada lactancia durante las primeras horas de vida del niño (Aguilar, 2005). Por lo que si la madre desea producir y alimentar al recién nacido con leche materna, no es recomendable la sustitución por fórmula láctea ya que no inicia el mecanismo que regula la producción de la leche que inicia con el reflejo de succión del bebé, al estimular los receptores sensitivos del pezón que desencadena la secreción de prolactina de la hipófisis anterior y oxitocina de la hipófisis posterior; la primera estimula la síntesis y producción de la leche, mientras que la segunda produce el reflejo de eyección (R & R., 2002). La obtención de menos de 5 ml durante la etapa <48h se puede adjudicar a diversos factores, uno de los principales es la alimentación del bebé la cual se basa en tomar fórmula láctea durante el tiempo de hospitalización. Entre las treinta y cuarenta horas postparto hay un cambio en la composición de la leche por el aumento en la síntesis de lactosa que provoca un aumento en el volumen de la leche sin que la madre perciba la sensación de agrandamiento de las mamas. Este evento no depende de la concentración de hormonas maternas, sino de la eficiente succión y remoción de ésta por parte del niño, con lo que se lleva a cabo un cambio de control autocrino (Ministerio de Salud de Chile, 2010). En la Figura 3A se observa que la máxima producción de leche materna es a los tres meses (3M), debido a que durante esta etapa de vida el niño demanda una mayor cantidad de leche materna porque se presenta un brote de crecimiento. Este periodo es crucial para que la madre decida continuar o no con la lactancia, ya que ella cree que la leche materna que le proporciona al bebé no le es suficiente para satisfacerlo, por lo que comienza a introducir la fórmula láctea para suplementar la alimentación del bebé y paulatinamente abandonar la lactancia (Padró, 2018). Como consecuencia se observa en la Figura 3A que desde la etapa 4-5M de lactancia la producción de leche comienza a disminuir. A partir del sexto mes de lactancia comienza la introducción de alimentos sólidos, lo que lleva a la menor frecuencia de las tomas de leche materna y causando que la producción siga bajando. Para las etapas posteriores a los seis meses (Figura 3B), se observa una notable reducción en la producción de leche entre los periodos de 6-7M y >1 año

porque a medida que el niño consume una mayor variedad de alimentos, la madre adopta la lactancia como una forma de apego entre su hijo y ella, y una forma de complementar su alimentación.

La lactancia materna tiene innumerables ventajas para el niño, una de las principales es llevar a cabo una nutrición óptima dado que ningún alimento es mejor que la leche materna en cuanto a calidad, consistencia, temperatura, composición y equilibrio en sus nutrimentos, lo que la convierte en un alimento personalizado. La leche materna es capaz de cambiar su composición y se adapta a los requerimientos del niño (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995), es por ello que durante los primeros seis meses no es necesario que el niño tome agua, té o jugo, ya que con la leche materna basta para mantenerse hidratado y así evitar el riesgo de diarreas y otras infecciones, además que su introducción puede disminuir la producción de leche. De acuerdo con un estudio realizado sobre el efecto que tiene la lactancia materna y la alimentación complementaria sobre la prevalencia de las enfermedades alérgicas, se encontró que el inicio de la alimentación complementaria más allá del cuarto mes de vida sí se asoció con una disminución en la prevalencia de la dermatitis atópica (Morales Romero, Bedolla Barajas, López Vargas, & Romero Velarde, 2015).

En los resultados sobre el contenido de agua en la leche materna que se presentan en la Figura 4A se observa que el porcentaje de agua se mantiene constante durante todas las etapas de lactancia y no existe diferencia significativa entre ellas. Sobresale el porcentaje de agua en la etapa <48h porque es el menor porcentaje reportado, esto puede deberse a la concentración de proteína.

El calostro tiene como principal función actuar como agente inmunológico y es de esperarse que el contenido de proteína durante las primeras horas de vida sea mayor en comparación a la leche de las demás etapas de lactancia gracias a la concentración elevada de IgA y de lactoferrina. Este periodo postnatal es crucial para la maduración del sistema inmune del recién nacido, la leche materna actúa como un modulador del sistema inmune. De acuerdo a un estudio donde se comparaba el tamaño del timo, el cual desempeña un papel principal en el

establecimiento de la inmunidad mediada por las células T, entre infantes que consumen leche materna y los que ingieren fórmula láctea se encontró que es más grande el de los primeros (Vieira Borba, Sharif, & Shoenfeld, 2018). La concentración promedio reportada de proteína en calostro es de 2g/100ml (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995), el cual es un valor similar al que se obtuvo en nuestro estudio. A partir de la primera semana (1° S) de lactancia se observa una disminución en la concentración de proteína ya que conforme aumenta la producción de leche tanto la lactoferrina como IgA disminuyen (Comisión de Lactancia MINSAL Chile, 1995). El valor reportado para la concentración de proteína en leche madura corresponde a un intervalo de 1-1.5g/100ml (Neville MC, 1991), en el que se encuentran los valores reportados de las etapas posteriores a <48h de este estudio.

A partir del sexto hasta el onceavo mes de lactancia se presenta una disminución de aproximadamente 2% en el contenido de proteína de la leche en comparación con la concentración de proteína de la leche de la 1° S de lactancia. Esto se debe a que las concentraciones de muchos nutrimentos que incluyen proteínas, grasas, calcio y zinc, disminuyen después de los primeros tres meses, alcanzando a menudo una meseta baja entre los nueve y los doce meses, con valores del 10 al 30% respecto al porcentaje de proteína entre uno y tres meses (Prentice, 1991).

La concentración de la grasa en la leche humana es el componente más variable ya que aumenta con intervalo de tiempo y es mayor respecto a la producida en el mismo pecho anteriormente. La grasa láctea aumenta durante el transcurso de cada toma, con un contenido notablemente mayor de grasa en la leche final que en la del inicio. Esto puede ser de beneficio biológico, ya que los bebés inicialmente obtienen leche rica en los sustratos esenciales solubles en agua, mientras que aquellos que tienen más hambre y beben más leche obtienen leche con un contenido creciente de grasa y energía para satisfacer sus necesidades calóricas (Koletzko, 2016). Esta concentración aumenta desde 2g/100ml en el calostro hasta alrededor de 4 a 4.5g/100ml a los 15 días postparto (Comisión de Lactancia MINSAL

Chile, 1995). Para que la alimentación al pecho funcione de un modo óptimo cuando se realiza a “libre demanda”, se recomienda ofrecer el pecho al bebé cuando éste lo pida y durante el tiempo que quiera, hasta que lo suelte espontáneamente. De este modo se regula la producción de leche según las necesidades del bebé y se asegura la ingesta de leche del inicio y del final de la toma, cuya composición es diferente (Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría, 2013), como sucede con la concentración de grasa. Después del primer año de edad, el niño reduce su velocidad de crecimiento y se traduce en un descenso de la ingesta de alimentos, pero no reducen la demanda de pecho por lo que la base de su alimentación a esa edad termina siendo la leche materna, así como al tercer mes de lactancia donde la leche materna necesita contener un alto contenido calórico para cubrir las necesidades del niño (Padró, 2018). En los resultados obtenidos para el contenido calórico de la leche se observa que sigue la misma tendencia que el gráfico donde se presentan los resultados de grasa (Figura 6) ya que es dependiente de la concentración de grasa que presente la leche en cada uno de los periodos marcados. La leche producida después del año de edad contiene un mayor contenido calórico, así que puede considerarse erróneo que en etapas avanzadas de lactancia la madre produce leche que no aporta nutrimentos al niño.

Una vez que la producción de leche materna baja, la concentración de sodio, proteína y grasa aumentan debido a cambios involutivos dentro del seno (Prentice, 1991). Esto se observa en las etapas posteriores a los seis meses de lactancia, en donde hay una disminución de la producción de leche y un incremento en la concentración de proteína y de grasa. Aun cuando la leche producida después del año de lactancia es menor respecto a la que se produce a partir del sexto hasta el onceavo mes, hay una mayor concentración de proteína y grasa, 1.2% y 4.5% respectivamente (Figuras 5B y 6B). Es probable que la contribución de la leche materna a la nutrición del niño mayor sea superior a la prevista en los estudios dietéticos debido a la alta biodisponibilidad y calidad nutricional de los componentes de la leche materna, como calcio, zinc, hierro, proteína y grasa, que no puede ser igualado por alimentos de destete (Prentice, 1991).

Estudios recientes muestran que la lactancia materna tiene efectos a largo plazo sobre el coeficiente intelectual y el desarrollo cognitivo (González de Cosío Martínez & Hernández Cordero, 2016). Estos beneficios podrían estar ligados a la alta cantidad de ácidos grasos de cadena larga en la leche materna, como los ácidos araquidónico y docosahexanoico, los cuales han mostrado tener un efecto positivo sobre el desarrollo cerebral, en especial durante la infancia (González de Cosío Martínez & Hernández Cordero, 2016). Los triglicéridos contribuyen aproximadamente el 98-99% de la materia grasa en la leche, sus propiedades están muy influenciadas por su composición de ácidos grasos. La leche materna de madres sanas también se caracteriza por la proporción óptima de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) de cadena larga n-3 y n-6 (Anatolitou, 2012) los cuales ejercen efectos biológicos importantes, particularmente en las funciones de la membrana, la producción de eicosanoides y docosanoides y los procesos fisiológicos relacionados, incluidos el crecimiento y la respuesta inmune. Además, su consumo por medio de la leche materna afecta positivamente el desarrollo funcional de la corteza cerebral y la retina de los bebés. Mientras que el ácido araquidónico de la leche se deriva de las reservas maternas, el ácido docosahexanoico (DHA) dietético se correlaciona estrictamente con el contenido de leche (Mosca & Gianni, 2017). En un estudio realizado en el año 2012, se evaluó la asociación entre la duración de la lactancia materna y el coeficiente intelectual (CI) de individuos de 30 años de edad con la cohorte de nacidos vivos en 1982 sin una estructura social de lactancia materna, seguidos de forma prospectiva desde el nacimiento. Además, analizaron si la lactancia materna tenía algún efecto sobre la escolaridad y los ingresos mensuales a esa misma edad. Se encontró que los individuos que recibieron lactancia materna por más de doce meses, comparado con los que la recibieron por menos de un mes, tenían en promedio 3.8 puntos más de CI, 0.9 años más de escolaridad y ganaban en media 341 reales (1 dólar = 0.49 real en 2012); resultados similares fueron encontrados en individuos que lactaron entre seis y doce meses (González de Cosío Martínez & Hernández Cordero, 2016).

Ya que no se encontró diferencia sobre la concentración de grasa y proteína en leche madura (la leche producida por la madre después del primer mes de

lactancia) entre los valores obtenidos experimentalmente y los reportados en la literatura, se consideró buscar otro componente que la leche materna ofrezca al lactante y genere un beneficio en periodos avanzados de la lactancia. Por ello se cuantificó la concentración de leptina, insulina y resistina en las leches debido a que son componentes bioactivos que no se encuentran presentes en las fórmulas lácteas pero sí en la leche materna. Los niños que son alimentados al seno materno tienen una mayor oportunidad de autorregular la cantidad de energía que consumen en comparación con los niños alimentados con fórmula (González de Cosío Martínez & Hernández Cordero, 2016).

La leptina se considera la principal fuente para el estómago durante el periodo de lactancia, particularmente durante la primera mitad en la que la producción de leptina gástrica se mantiene baja (Palou & Catalina, *Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life*, 2009). Es una hormona que desempeña un papel fundamental en la regulación hipotalámica de la homeostasis de la energía disminuyendo la ingesta de alimentos y aumentando el gasto energético (Brunner, y otros, 2014), por lo que se sugiere que la lactancia proteja al infante contra la obesidad posterior. Un estudio realizado en Alemania en el que se buscó la relación de la leptina y adiponectina en la leche materna con el aumento de peso del bebé y la composición corporal con base en las mediciones del grosor del pliegue cutáneo hasta los dos años de vida demuestra que la leptina de la leche a los cuatro meses estuvo inversamente relacionada con el peso del bebé, el IMC y la masa corporal magra; estas y otras observaciones pueden inferir que los bebés amamantados, especialmente en los primeros años de vida cuando el sistema regulador del apetito aún es inmaduro, obtienen una regulación a corto y largo plazo de la ingesta de alimentos y otras adaptaciones metabólicas gracias a la leptina presente en la leche. Este efecto aún no se sostiene a etapas posteriores a los dos años de vida. En comparación con las primeras seis semanas, la concentración de leptina medida en leche es ligeramente más baja a los cuatro meses de lactancia (0.11ng/ml y 0.09ng/ml, respectivamente) (Brunner, y otros, 2014). En los resultados obtenidos en este estudio se observa (Figura 8A) que existe una concentración menor en todas las etapas en

comparación con los resultados anteriormente mencionados, sin embargo la presencia de leptina conforme avanza la lactancia va incrementándose. Por lo que se puede inferir que entre más tiempo se alimente al niño con leche materna obtendrá esa regulación del apetito. Además de su función principal que es la regulación de la ingesta de alimentos, la leptina también actúa en otros procesos como: el desarrollo fetal, maduración sexual, formación de huesos, proliferación celular del epitelio de los riñones y es agente en la respuesta inmune (Becerra Bulla, Bonilla Bohórquez, & Rodríguez Bonilla, 2015).

Diversos autores describen que la insulina secretada en la leche puede tener un papel importante para el bebé y posiblemente esté involucrada en el desarrollo funcional. Los resultados de un estudio en el 2012, indican que la mayor concentración de insulina en la leche se asoció con un menor peso y masa magra, lo que afecta el crecimiento del recién nacido. Esta información respalda un papel importante de la insulina secretada en la leche materna en el crecimiento del recién nacido durante los primeros meses de vida (Badillo Suárez, Rodríguez Cruz, & Nieves Morales, 2017).

Durante los primeros tres días postparto, la resistina presenta una concentración alta en el suero materno y luego disminuye. Existe evidencia que sugiere que la síntesis de esta hormona se lleva en la glándula mamaria, donde los niveles en la leche disminuyen durante la lactancia; por lo tanto, la leche puede suministrar parte de la resistina que circula en el bebé (Badillo Suárez, Rodríguez Cruz, & Nieves Morales, 2017). En otro estudio, se encontró que los niveles medios de resistina de la leche son significativamente más bajos que los niveles de resistina en suero de los lactantes alimentados con leche materna. Existe una correlación débil pero significativa entre los niveles de resistina de la leche materna y la resistina sérica infantil ($p < 0,05$), lo que indica que la leche materna podría ser una fuente de resistina para los lactantes (Kratzsch, Bae, & Kiess, 2018). La concentración de resistina en los primeros días de lactancia reportados son de 1710 ± 68 pg/ml por el método de ELISA (Ilcol, Hizli, & Eroz, 2008), mientras que los obtenidos en este estudio son de 9840 ± 1829 pg/ml.

Se reconoce que la leche materna cubre satisfactoriamente los requerimientos del lactante hasta el cuarto mes en 95%, y disminuye a 80% durante el sexto mes, a 60% el noveno y 32.5% a los 12 meses; motivo por el cual se recomienda el inicio de la ablactación al sexto mes (Delgado Becerra, Arroyo Cabrales, Díaz García, & Quezada Salazar, 2006). Se han mencionado diversos beneficios que proporciona la lactancia tanto para el lactante como la madre, siendo uno de los fundamentales el consumo por parte del lactante de la leche que es producida por la madre durante los primeros 14 días ya que es la considerada como la más importante, el calostro protege de diversas enfermedades y contribuye a un óptimo desarrollo del sistema inmunológico, por lo que la leche producida durante este periodo se considera como la mejor “vacuna” que el niño puede recibir. Mientras que para la madre también ofrece grandes beneficios para su salud física y emocional, como favorecer la contracción del útero y ayudar a terminar de expulsar la placenta; promover la producción de leche y así evitar la congestión de los pechos; ayudar a retomar el peso que tenía antes de su embarazo (ya que la lactancia requiere un mayor gasto energético en comparación con el embarazo); reducir el riesgo de depresión post parto; reducir el riesgo de anemia; prevención de cáncer de mama y de ovario, y reduce el riesgo de osteoporosis después de la menopausia; genera un vínculo afectivo inigualable con el bebé (UNICEF, 2015). La evidencia disponible sugiere que la lactancia materna puede tener beneficios a largo plazo, entre ellos se encuentran que el infante alimentado con leche materna tienen una presión arterial media más baja y un colesterol total más bajo, además, la prevalencia de sobrepeso/obesidad y diabetes tipo 2 es menor (Horta, Rajiv, Martines, & Victoria, 2007). También se ha sugerido que la experiencia de la alimentación al pecho materno expone al lactante a diferentes sabores que encuentra en la leche humana; en consecuencia, alimentos consumidos por la madre con mayor frecuencia, serían mejor aceptados. Si durante la lactancia materna se da el primer contacto con los alimentos, es probable que esta experiencia tenga un impacto en el desarrollo de los gustos y preferencias alimentarias que perduren en la etapa de preescolar, periodo en el que se consolidan los hábitos alimentarios (Mariscal Rizo, y otros, 2017). En los primeros

años, el niño necesita afecto por parte de su madre, por lo que el mantenerse cerca de ella y que al amamantarlo cuando siente hambre le suscita al niño una sensación de seguridad, ya que la lactancia materna no sólo proporciona alimento al bebé, sino también le da afecto y tranquilidad y es fundamental para su desarrollo psicoafectivo. Este vínculo propicia la adquisición paulatina de una serie de habilidades que el niño utilizará y perfeccionará a lo largo de su vida (UNICEF, 2015). Sin embargo, a pesar de las múltiples campañas de promoción, la lactancia materna completa (exclusiva y predominante) no ha alcanzado la frecuencia esperada; la prevalencia de lactancia materna exclusiva hasta los seis meses ha descendido significativamente de 22.3% en 2006 a 14.4% en 2012 (Mariscal Rizo, y otros, 2017), y por consecuencia es un logro para aquellas mujeres que logran llegar al año de lactancia.

Los niños que son alimentados al seno materno tienen una mayor oportunidad de autorregular la cantidad de energía que consumen en comparación con los niños alimentados con fórmula. En el estudio DARLING se encontró que el total de energía ingerida por los lactantes alimentados con fórmula excedió a la ingerida por niños alimentados al seno materno en 15% a los tres meses, 23% a los seis meses, 20% a los nueve meses y 18% a los doce meses. Se ha identificado que las madres que brindan alimentación al pecho materno durante el primer año ejercen menos presión sobre el control de la alimentación de los niños cuando consumen alimentos sólidos (Badillo Suárez, Rodríguez Cruz, & Nieves Morales, 2017). Se ha demostrado que una mayor duración de la lactancia materna es beneficiosa tanto para las mujeres como para sus hijos, por ejemplo, un estudio reciente realizado con mujeres de las zonas rurales de China ha demostrado que las mujeres que amamantaron a sus bebés durante dos años o más redujeron su riesgo de cáncer de mama en un 50%; se propusieron 2 hipótesis para que esto suceda, la primera indica que los carcinógenos solubles en grasa y los contaminantes no se almacenan tanto en los senos lactantes, y la segunda es que la lactancia reduce la exposición al estrógeno que se encuentra en los ciclos hormonales femeninos regulares (Merrill, 2001).

8. RESUMEN DE RESULTADOS

Con lo expuesto y discutido en el presente trabajo, se destaca lo siguiente:

- Se cumplió el objetivo de estandarizar la toma de muestra de leche. Para ello, es necesario identificar la forma de eyección de la leche de cada mujer durante la toma, y así detener la extracción en el momento correcto. Es muy importante llevarla a cabo de forma correcta, ya que de esto depende el correcto análisis de las muestras.
- Las diferencias en la composición nutrimental de la leche materna se presentan durante la primera semana de lactancia. Destacando que la concentración de proteína presente en las primeras cuarenta y ocho horas es mayor respecto a las demás etapas. Posterior al año, la concentración de proteína se incrementa comparado con los seis meses de lactancia.
- La presencia de otros componentes bioactivos metabólicos como la leptina, resistina e insulina después de los seis meses de lactancia, pueden tener una función importante en el desarrollo y programación del niño, como ayudar a la prevención de sobrepeso y obesidad.

9. CONCLUSIONES

Se demostró que existe diferencia en la composición nutrimental de la leche materna entre la primera semana y periodos posteriores de lactancia. Sin embargo, es importante que el niño siga consumiendo leche materna después de los seis meses, aun cuando ya inició con la alimentación complementaria; ya que la leche materna sigue aportando nutrimentos que ayudan a complementar su dieta, favorece el establecimiento de vínculos afectivos entre madre e hijo y, provee componentes bioactivos metabólicos como los estudiados en el presente trabajo, que no se encuentran en fórmulas lácteas o algún otro tipo de leche. Estas hormonas son importantes para la regulación del balance energético, prevenir obesidad, resistencia a la insulina y diabetes en la etapa adulta.

10. REFERENCIAS

- AEP, C. d., & Gómez Fernández-Vegue, M. (2015). Lactancia Materna en Niños Mayores o "Prolongada". *Anales de Pediatría*.
- Aguilar Palafox, M. I., & Fernández Ortega, M. Á. (2007). Lactancia materna exclusiva. *Revista de la Facultad de Medicina. UNAM*.
- Aguilar, C. (2005). *Lactancia Materna (Tercera Edición)*. Madrid: Elsevier.
- Anatolitou, F. (2012). Human milk benefits and breastfeeding. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine*, 11-18.
- Badillo Suárez, P. A., Rodríguez Cruz, M., & Nieves Morales, X. (2017). Impact of Metabolic Hormones Secreted in Human Breast Milk. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 171-191.
- Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatric Clinics of North America*, 49-74.
- Becerra Bulla, F., Bonilla Bohórquez, L., & Rodríguez Bonilla, J. (2015). Leptina y lactancia materna: beneficios fisiológicos. *Revista Facultad de Medicina*, 119-126.
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 248-254.
- Brunner, S., Schmid, D., Zang, K., Much, D., Knoefel, B., Kratzsch, J., . . . Hauner, H. (2014). Breast milk leptin and adiponectin in relation to infant body composition up to 2 years. *Pediatric Obesity*, 67-73.
- Comisión de Lactancia MINSAL Chile. (Diciembre de 1995). La leche humana, composición, beneficios y comparación con la leche de vaca. *Extraído y adaptado de Manual de Lactancia para Profesionales de la Salud*. Obtenido

de [web.minsal.cl:
http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/manual_lactancia_materna.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/manual_lactancia_materna.pdf)

Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría. (2013). Lactancia Materna a Demanda. Recomendaciones. *Anales de Pediatría*.

Delgado Becerra, D. A., Arroyo Cabrales, D. L., Díaz García, D. M., & Quezada Salazar, D. C. (2006). Prevalencia y causas de abandono de lactancia materna en el alojamiento conjunto de una institución de tercer nivel de atención. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 31-39.

Fernández Molina, L., Soriano del Castillo, J. M., & Blesa Jarque, J. (2016). La nutrición en el periodo preconcepcional y los resultados del embarazo: revisión bibliográfica y propuesta de intervención del Dietista-Nutricionista. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 48-60.

Folch, J., Less, M., & H., S. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of biological chemistry*, 497-509.

González de Cosío Martínez, T., & Hernández Cordero, S. (2016). *Lactancia materna en México*. México: Intersistemas, S.A. de C.V.

Herring, S. J., & Oken, E. (2010). Ganancia de peso durante el embarazo: Su importancia para el estado de salud materno-infantil. *Annales Nestlé*, 17-28.

Horta, B. L., Rajiv, B., Martines, J. C., & Victoria, C. G. (2007). Evidence on the long-term effects of breastfeeding: Systematic Reviews and Meta-Analyses. *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data*.

Ilcol, Y. O., Hizli, Z. B., & Eroz, E. (2008). Resistin is present in human breast milk and it correlates with maternal hormonal status and serum level of C-reactive protein. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 118-124.

INEGI. (2017). Estadísticas a propósito del... día de la madre (10 de mayo). 1-17.

- INSP, I. N. (2012). Nutrición Niños. Prácticas de alimentación infantil en niños menores de dos años. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados nacionales*, 163-167.
- Koletzko, B. (2016). Human Milk Lipids. *Annals of nutrition & metabolism*, 28-40.
- Kratzsch, J., Bae, Y. J., & Kiess, W. (2018). Adipokines in human breast milk. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 27-38.
- Mariscal Rizo, A. G., Vásquez Garibay, E. M., Santos Torres, M. I., Espinosa Gómez, M. d., Troyo Sanromán, R., & Chávez Palencia, C. (2017). Diferencias entre conductas alimentarias de preescolares que recibieron lactancia materna completa y preescolares que recibieron sucedáneos de la leche humana. *Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 130-137.
- Merrill, K. (2001). Breastfeeding: How Long is Best? *Nutrition Bytes*, 1-4.
- Ministerio de Salud de Chile. (2010). Lactancia Materna. Contenidos técnicos para profesionales de la salud. *Manual de Lactancia Materna*.
- Morales Romero, J., Bedolla Barajas, M., López Vargas, L., & Romero Velarde, E. (2015). Prevalencia de las enfermedades alérgicas y su asociación con la lactancia materna y el inicio de la alimentación complementaria en niños de edad escolar de Ciudad Guzmán, México. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 324-330.
- Mosca, F., & Gianni, M. L. (2017). Human milk: composition and health benefits. *La Pediatría Medica e Chirurgica*, 47-52.
- Neville MC, A. C. (1991). Studies in human lactation: milk volume and nutrient composition during weaning and lactogenesis. *Am J Clin Nutr.*, 81-92.
- Nollet, L. M. (1996). *Handbook of food analysis*. Nueva York: M. Dekker.

- OMS. (2014). Directriz: Administración diaria de suplementos de hierro y ácido fólico en el embarazo. *Organización Mundial de la Salud*.
- OMS. (Octubre de 2017). *10 datos sobre la obesidad*. Recuperado el 9 de Febrero de 2018, de Datos y Cifras. Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/es/>
- OMS. (18 de Octubre de 2017). *Obesidad y sobrepeso*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- OMS. (3 de Enero de 2018). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Temas de Salud. Lactancia Materna: <http://www.who.int/topics/breastfeeding/es/>
- OMS. (3 de Enero de 2018). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Recomendación de la OMS sobre la alimentación del lactante: http://www.who.int/nutrition/topics/infantfeeding_recommendation/es/
- Padró, A. (26 de Marzo de 2018). *Crisis o brotes de crecimiento*. Obtenido de alBA Lactancia materna: <http://albalactanciamaterna.org/lactancia/tema-4-cuando-los-ninos-crecen/crisis-o-brotes-de-crecimiento/>
- Palou, A., & Catalina, P. (2009). Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life. *Appetite*, 249-252.
- Palou, A., & Picó, C. (2009). Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life. *Appetite*, 249-252.
- Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-2016. Diario Oficial de la Federación. (7 de Abril de 2016).
- Patel, A. L., & Kim, J. H. (2018). Human milk and necrotizing enterocolitis. *Seminar in Pediatric Surgery*, 34-38.

- Picciano, M. F. (2001). Nutrient Composition of Human Milk. *Pediatric Clinics of North America*, 53-67.
- Prentice, A. (1991). Breast Feeding and the Older Infant. *Acta Paediatrica Scandinavica. Supplement 374*, 78-88.
- Preusting, I., Brumley, J., Odibo, L., Spartz, D. L., & Louis, J. M. (2017). Obesity as a Predictor of Delayed Lactogenesis II. *Journal of Human Lactation*, 684-691.
- R, G., & R., P.-E. (2002). Stress during labour and delivery is associated with delayed onset of lactation among urban Guatemalan women. *Community and International Nutrition*.
- Rodríguez Morán, M., Naveiro Rilo, J. C., Blanco Fernández, E., I., C., M., R. F., & Peral Casado, A. (2009). Prevalencia y duración de la lactancia materna. Influencia sobre el peso y la morbilidad. *Nutrición Hospitalaria*, 213-217.
- UNICEF. (2013). Consejos útiles sobre la alimentación y nutrición de la embarazada. *Manual para los profesionales de la Salud*.
- UNICEF. (2015). La leche materna salva vidas. *Suplemento Especial El Universal*, 1-8.
- Vieira Borba, V., Sharif, K., & Shoenfeld, Y. (2018). Breastfeeding and autoimmunity: Programming health from the beginning. *American Journal Reproductive Immunology*.

11. ANEXOS

Anexo 1. Aprobación Comité de Ética e Investigación de la Secretaría de Salud y



Ciudad de México, 26 de mayo de 2016
Oficio No. SSD/IDGPCS/DEI/SECIJUD/1111/16
ASUNTO: Aprobación de protocolo de investigación.

**LIC. EN NUTRICIÓN EMMA MARCELA CENTURIÓN MURILLO,
ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA EN EL DEPARTAMENTO DE
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN
P R E S E N T E:**

Con relación al proyecto de investigación titulado **"RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE CORTISOL EN SUERO Y LECHE MATERNA"**, que remite para evaluación de procedencia, le comunico que el Comité de Ética en Investigación de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México, lo considera de información relevante y con riesgo mínimo, de acuerdo con la normatividad vigente en materia de protección de datos personales, **"la información identificatoria (personal) se encuentra desvinculada de la información sustantiva para el estudio y solo se requiere para validar la información"**, amén de las normas éticas y morales, y los acuerdos internacionales que se aplican a la discreción y secrecía en el ejercicio de la profesión médica, así como la seguridad de la información genética. Por lo anterior, ha dictaminado la **aprobación con observaciones del estudio**, asignándole el número de registro **494001/01/16**.

En ese sentido y con el propósito de brindar un mejor apoyo a sus actividades, debo señalarles que los apoyos que solicitan para su proyecto, deben ser gestionados directamente en la Unidad de Atención que se requiera, ante el titular que corresponda, quién decidirá libremente la participación de su unidad, de la misma manera que el personal operativo que desee involucrarse, considerando como prioridad el servicio y la atención a los usuarios.

ATENTAMENTE.



**DR. FEDERICO MIGUEL LAZCANO RAMIREZ,
PRESIDENTE.**

SECRETARÍA DE SALUD
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN

E.C.P. Mtro. Luis Ángel Vázquez Martínez - Director General de Planeación y Coordinación Sectorial de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México - Presente.
E.C.P. Dr. Alejandro Pineda Navío - Director General de Asesoría y Apoyo al Sistema Científico - Presente.
E.C.P. Dr. José Luis Sánchez Morrey - Jefe de Enseñanza e Investigación del Hospital Materno Infantil Magdalena Contreras - Presente.
E.C.P. Arq.HC.

RSM



SECRETARÍA DE SALUD
Dirección de Educación e Investigación
Subdirección de Educación Científica e Investigación
Avenida N° 25 y Piedad de la Cruz, C.P. 06702
Calle Andrés Bello, Ed. 1102/2004, C.A. 065, México, D.F.

Aprobación Comité de Ética y de Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

Ciudad de México, a 03 del noviembre de 2018

Dra. Elva Zuberano González
Investigadora Principal
DEPTO. DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN"
Av. Vasco de Quiroga No. 15
COL. BELISARIO DOMÍNGUEZ SECCIÓN XVI
DEP. TLAXCALA, CIUDAD DE MÉXICO
C.P. 014000
PRESENTE

Por este medio, nos permitimos informarle que el Comité de Investigación, así como el Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, ha revisado y aprobado el Protocolo de Investigación Clínica titulado:

"IMPACTO NUTRICIONAL Y HORMONAL MATERNO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL EN LA LECHE HUMANA"
VERSIÓN SEPTIEMBRE 2018
REF. 2000

La vigencia de la aprobación interna es del día 03 de noviembre de 2017. Si la porción del estudio es mayor a la que solicita la re-aprobación anual del mismo, informando sobre los avances y resultados parciales de la investigación e incluyendo todos los datos sobresalientes y conclusiones.

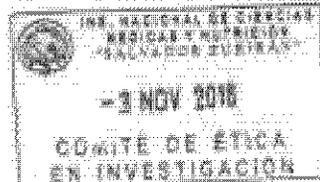
Sin más por el momento quedamos de usted:

ATENTAMENTE,

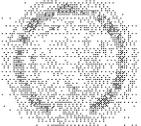

DR. CARLOS A. ACUÑA SALINAS
PRESIDENTE
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN


DR. ARTURO GALINDO PINEDA
PRESIDENTE
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

Calle 20 de Noviembre, Sección XVI, Ciudad de Investigación
Avenida Vasco de Quiroga 15
Ciudad de México, CDMX
Código Postal 06000
Tel: 5613 10000
www.incmn.salvadorzubiran.mx

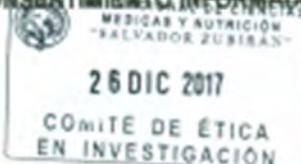


Anexo 2. Carta de Consentimiento Informado

	CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO		
COM. N.º	De	Mes	Año
Estimado participante:			
<p>Por favor, tome el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregúntele al investigador sobre cualquier duda que tenga. Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki y las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética. Para decidir si participa o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los riesgos y beneficios que este estudio conlleva, así como de tomar una decisión informada. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación titulado "Relación entre las concentraciones de cortisol en saliva y leche materna", el cual podrá consultar con algún miembro del equipo de investigadores. Al terminar de leer este documento de la página que forma parte del proyecto y de ser así, bajo ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.</p>			
Razón del estudio:			
<p>La leche materna es una importante vía de comunicación entre la madre y el hijo durante los primeros etapas de la vida. A través de ella se transfiere de la madre al recién nacido nutrientes y componentes bioactivos, tales como inmunoglobulinas, factores de crecimiento, hormonas, entre otros. Todos estos componentes poseen un papel importante en el crecimiento y desarrollo del recién nacido, e influyen en la ingesta energética del niño y su metabolismo. La identificación de hormonas involucradas en la regulación del sistema energético, tales como el cortisol sugieren que la leche materna es una fuente de componentes críticos en el desarrollo metabólico del niño. Sin embargo, a pesar de que se ha explorado ampliamente la composición de la leche humana y que se han realizado caracterizaciones de cortisol en la leche, aún no se ha reportado una asociación de las características maternas con las concentraciones de la lactancia. Dado que la lactancia se discontinúa de forma exclusiva durante los primeros seis meses de vida y complementaria hasta los dos años, resulta relevante conocer la influencia del estudio materno sobre la concentración de lactancia y componentes de la leche humana. Los resultados obtenidos en el presente proyecto nos permitirán ampliar los conocimientos de los mecanismos de interacción durante la lactancia.</p>			
			



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



CDMX, a

A quien corresponde:

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio: **"Relación entre las concentraciones de cortisol en suero y leche materna"**, que se realiza en el Hospital Materno Infantil Magdalena Contreras en conjunto con el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán y cuyos objetivos consisten en: cuantificar la concentración de cortisol en la leche y el sueromaterno en diferentes momentos de la lactancia para evaluar si hay correlación entre ambas concentraciones; y realizar un análisis de la composición química y nutricional de la leche y su relación con las concentraciones de cortisol.

Estoy consciente de que los procedimientos, pruebas y tratamientos para lograr los objetivos mencionados consisten en lo siguiente:

1. Entrevista (durante la primera etapa), donde se obtendrá información sobre la historia clínica durante el embarazo y del expediente clínico. Se medirá peso y talla. Cada medida será tomada 2 veces por personal altamente capacitado, para minimizar las posibles molestias. En el caso del hijo(a) solamente se dará la información del peso y talla.
2. En tres etapas durante la lactancia: se pesará a la madre, se tomará una muestra de leche materna con un tira-leches, para conocer la composición y la concentración de una hormona llamada cortisol. La extracción de leche materna consiste en recolectar una muestra de leche (2-140mL) con una bomba extractora eléctrica, que simula la succión del bebé, nose debe amamantar con uno de los dos senos al niño hora y media previa a la toma de la muestra. El uso de tira-leches en ocasiones puede causar un poco de molestia al extraer la leche, como ocurre cuando el bebé succiona el pecho, pero no debe causar dolor ni daño a la piel o pezones. Su uso esporádico tampoco interfiere con la producción de leche. Por comodidad y seguridad, la velocidad de extracción se determinará de manera personalizada y se realizará por personal altamente capacitado, lo que disminuye el posible riesgo de incomodidad e irritación temporal en los pezones. Es importante señalar que el tira-leches siempre será esterilizado para su uso.
3. En las tres etapas de lactancia también: se le tomará una muestra de sangre de aproximadamente 6ml para medir la concentración de cortisol en suero. La toma de la muestra se realizará media hora antes de la obtención de la leche. Así mismo, se obtendrán datos de los análisis clínicos previos al parto.

Las mediciones antropométricas, las muestras de leche y obtención de sangre son obtenidas por personal altamente capacitado. La sujeto experimental se deberá presentar en condiciones de ayuno mínimo de 8 horas y no deberá alimentar al niño o extraerse leche del seno del que se extraerá la muestra al menos 1.5 horas antes de la toma de la muestra de leche.

Las entrevistas y aplicación de cuestionarios y obtención de mediciones tendrán una duración aproximada de 60 minutos.

Estoy consciente de que los riesgos para mi persona son los siguientes: Al momento de la toma de muestra de sangre, se podría presentar un leve dolor y posteriormente un pequeño moretón, sin embargo esto no tiene ninguna implicación de riesgo para la salud. El material que se usará para la toma de muestra siempre será nuevo (estéril) y desechable. Algunas de las molestias relacionadas con la extracción de leche materna se mencionaron en la parte superior al describir la técnica y tampoco generan un riesgo para la salud. La obtención de la muestra de leche, la cantidad total que se extraerá del seno materno es una cantidad que puede fluctuar entre 2 a 140ml de leche aproximadamente, cantidad que no afectará la alimentación del niño en ese día, ni representa ningún riesgo para la producción de la leche. El seno materno producirá de nuevo leche, ya que estos se llenan continuamente.

En el caso de que la extracción de leche moleste o genere dolor por el uso del tira-leches puedo decidir interrumpir el proceso y no dar la muestra de leche, sin que esto tenga alguna consecuencia para mi persona.

Las muestras biológicas serán transportadas al Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán donde se guardarán y analizarán.

Autorizo que se guarde la muestra de leche y sangre que sobrepas 3 años, en caso de que se requiera repetir o requerir algún otro tipo de medición para este o estudios futuros.

Entiendo que del presente estudio se derivarán los siguientes beneficios: Conocer la concentración de cortisol en la sangre y la leche materna y su relación con la composición química, nutricional y propiedades de la leche materna. Además, que se me brindará en caso



de que así lo desea consignará en lecturas para recibir cualquier duda o dificultad al respecto y un pequeño obsequio para los bebés como agradecimiento que será entregado cuando terminen la participación.

Entiendo que toda la información obtenida será de carácter estrictamente confidencial.

En ningún caso la información brindada por la persona será asociada con la persona o con datos relativos a su identidad, sino serán utilizados por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito, salvo en ocasiones, el personal autorizado de las instituciones participantes (Comité de Ética) podría solicitar revisiones. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrán ser identificados por los participantes en el estudio. Los datos aportados se procesarán a través de códigos. Los resultados del estudio no serán utilizados en el expediente médico y no afectarán la atención médica que se proporcione en el hospital, clínica o cualquier otra instancia de salud.

Es de mi conocimiento que será libre de retirarme de la presente investigación en el momento que yo así lo desee. También que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio.

Así mismo, cualquier acuerdo relacionado con esta investigación podrá consultarlo con el jefe de Enseñanza e Investigación de la unidad de atención: «Dr. José Luis Sánchez Méndez, Tel (562) 5487 0004, Av. Luis Cabrera 618, La Magdalena Contreras, San Jerónimo Lídice, CP 06200 Ciudad de México», con los investigadores «Dr. Emma Marcela Cervantes Méndez, Tel (562) 5487 0002 ext 2417, Cel (443) 2531070, correo electrónico-mail: emmascv@unam.mx, Depto. de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Avenida Vasco de Quiroga No. 28, Colonia Doctores, Ciudad de México, CDMX, Delegación Tlalpam, C.P. 04500 Ciudad de México» y «Dra. Elena Zambrano González, Tel (562) 5487 0000 ext. 2417, Depto. de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán Cel. (55) 44000000». También podrá hablar con el presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNIZ (Dr. Arturo García Fraga, Teléfono: 54870000 ext. 6301). En caso de algún trastorno relacionado con esta investigación, el jefe de Enseñanza e Investigación comunicará el evento a la Dirección de Educación e Investigación de la SSCF, en donde se decidirá la necesidad de convocar al investigador principal y al Cuerpo Colegiado competente, para su resolución. Cuando el trastorno se identifique como efecto de la intervención, la instancia responsable deberá atender médicamente al paciente hasta la recuperación de su salud o la estabilización y control de las lesiones.

En caso de que desistiera de retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no es verá afectada.

Nombre:		Firma:	
<small>El espacio reservado para el nombre, tipo e identificación legal.</small>			
Dirección:		Teléfono:	
Nombre y firma del testigo:		Firma:	
Dirección:		Teléfono:	
Nombre y firma del testigo:		Firma:	
Dirección:		Teléfono:	
Nombre y firma del investigador responsable:		Firma:	
Dirección:		Teléfono:	

x: o. p. Paciente o familiar.
x: o. p. Investigador (consentir en el expediente de la investigación).



Anexo 3. Cartel del protocolo.



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS
MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRÁN Y LA SECRETARÍA DE SALUD DE
LA CIUDAD DE MÉXICO



¿Te gustaría conocer la composición de la leche materna que le das a tu bebé?

Te invitamos a participar en este protocolo de investigación para estudiar
la composición de la leche materna.

Requisitos:

- Ser mujer mayor de 18 años.
- Haber tenido un bebé recientemente (máximo 3 meses de edad) o estar en el último trimestre del embarazo.
- Estar amamantando o tener planes de hacerlo.

Beneficios:

- Evaluación nutricional y dieta personalizada para la madre
- Consejería en lactancia
- Obsequio para el bebé

MAYOR INFORMACIÓN Y CITAS:

LN. Emma Centurión Murillo

Cel. (55) 44-59-26-61 

 Nutrición perinatal y lactancia
(@nplactancia)



Anexo 4. Cuestionario.



#1 ANTROPOMETRÍA DE LA MADRE

1. Número de folio del participante	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
2. Número de registro	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
3. Nombre de la madre: _____	
4. Código del entrevistador	<input type="text"/> <input type="text"/>
5. Fecha de la medición	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
6. Hora de la medición (considere horario de 24 horas)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
7. Peso (Kg)	<input type="text"/> <input type="text"/> - <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> - <input type="text"/>
8. Talla (cm)	<input type="text"/>

Observaciones:



RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL EN SUERO Y LECHE MATERNO.



#2MUESTRA DE SANGRE DE LA MADRE

1. Número de folio del participante	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
2. Número de registro	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
3. Código del muestrista	<input type="text"/> <input type="text"/>
4. Fecha de toma de la muestra	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
5. Hora de la última comida (horario de 24h)	<input type="text"/> <input type="text"/> : <input type="text"/> <input type="text"/>
6. ¿Se realizó la muestra? 1=Si 2=No	<input type="checkbox"/>
7. Hora en que se tomó la muestra (horario de 24h)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
8. ¿Qué cantidad de la muestra venosa se obtuvo?	<input type="text"/> <input type="text"/>
9. ¿Qué cantidad de alícuotas de plasma se obtuvieron?	<input type="text"/>

Observaciones:

EVALUACIÓN DE ESTRÉS

1. Nivel de estrés de la paciente					<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	
Nada estresada	Poco estresada	Moderadamente estresada	Estresada	Muy estresada	
2. ¿El bebé está llorando? 1.Sí 2.No					<input type="checkbox"/>
3. ¿La paciente se encuentra angustiada? 1.Sí 2.No					<input type="checkbox"/>
Observaciones:					
<hr/>					
<hr/>					



RELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE CORTISOL EN SUERO Y LECHE MATERNA.



#3MUESTRA DE LECHE DE LA MADRE

1. Número de folio del participante	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
2. Número de registro	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
3. Nombre de la madre: _____	
4. Código del entrevistador	<input type="text"/> <input type="text"/>
5. Mes de lactancia	<input type="text"/>
6. Fecha de toma de la muestra	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
7. Fecha del nacimiento del niño	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
8. Hora de toma de la muestra (horario de 24h)	<input type="text"/> <input type="text"/> : <input type="text"/> <input type="text"/> - <input type="text"/> <input type="text"/> : <input type="text"/> <input type="text"/>
9. ¿Le da pecho al niño? 1.Sí 2.No	<input type="text"/>
10. ¿De qué seno se extrajo la muestra? 1. Derecho 3. Ambos 2. Izquierdo 4. Ninguno	<input type="text"/>
11. Hora de la última tetada (horario de 24h)	<input type="text"/> <input type="text"/> : <input type="text"/> <input type="text"/>
12. Tiempo entre la última tetada del seno donde se tomó la muestra y la toma de la muestra (horario de 24h) pregunta 8	<input type="text"/> <input type="text"/> : <input type="text"/> <input type="text"/>
13. ¿De qué seno le dio de comer la última vez? 1. Derecho 3. Ambos 2. Izquierdo 4. Ninguno (pase a la pregunta 21)	<input type="text"/>
14. ¿Cuánto tiempo le dio de comer del seno? (marcar el tiempo en minutos, 00 si no aplica)	<input type="text"/> <input type="text"/>
15. ¿Consumió otros líquidos su niño? 1. Sí 2.No (pase a pregunta 17)	<input type="text"/>
16. ¿Cuáles líquidos? 1. Agua 2. Fórmula ¿Cuál? _____ 3. Atole 4. Té 5. Jugo	<input type="text"/>
17. ¿Consumió otros alimentos sólidos? 1. Sí ¿Cuáles? _____ 2. No	<input type="text"/>
18. Método de extracción de la muestra 1. Bomba eléctrica 3. Manual	<input type="text"/>



RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL EN SUERO Y LECHE MATERNOS.



2. Bomba mecánica 4. Ninguna

19. Volumen total recolectado

20. Número de alícuotas obtenidas

21. Interferencia en la medición

1. Si ¿Cuál? _____
2. No

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	ml
<input type="text"/>	<input type="text"/>		
<input type="text"/>			

Observaciones:



RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL EN SUERO Y LECHE MATERNOS.

#4HISTORIA CLÍNICA DE LA MADRE

DATOS PERSONALES

1. Folio:

2. Fecha:

3. Número de registro: _____

4. Nombre: _____

5. Edad: _____ 6. Fecha de nacimiento:

7. Teléfono: _____

8. Celular: _____

ANTECEDENTES GENERALES

1. ¿Padece alguna enfermedad como hipertensión arterial, enfermedades hipertensivas del embarazo, enfermedades renales, hepáticas, cardíacas, vasculares o cualquier otra alteración endócrina u otra relevante?

1. Sí ¿Cuál? _____

2. No

2. ¿Se le ha realizado alguna cirugía?

1. Sí ¿Cuál? _____

2. No

3. ¿Ha recibido transfusiones sanguíneas?

1. Sí 2. No

4. ¿Consumía alcohol previo al embarazo?

1. Sí 2. No

5. ¿Fumaba previo al embarazo?

1. Sí 2. No

6. ¿Consumía café u otras bebidas con cafeína previo al embarazo?

1. Sí 2. No

Observaciones: _____

HISTORIA OBSTÉTRICA

1. Número de gestas: 2. Número de partos:



RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL EN SUERO Y LECHE MATERNOS.

3. Número de cesáreas: 4. Número de abortos:

5. Antecedentes obstétricos a destacar: _____

6. ¿Ha lactado anteriormente? 1. Sí 2. No 0. No aplica

ÚLTIMO EMBARAZO/PARTO (ACTUAL)

7. FUM:

8. Talla: cm

9. Peso previo al embarazo:

10. Peso máximo registrado: Kg SDG h:

11. Último peso registrado: Kg SDG h:

12. Peso post-parto (primeras 48h): Kg SDG: h:

13. Incidencias durante el embarazo: 1. Sí 2. No

14. ¿Cuáles?

- 1. Intolerancia a HC o diabetes gestacional
- 2. Preeclampsia o desórdenes hipertensivos
- 3. Amenaza de parto prematuro
- 4. Ruptura prematura de membranas
- 5. Hemorragias
- 6. Otros: _____

Observaciones: _____

15. Medicamentos o suplementos durante el embarazo: 1. Sí 2. No

Medicamento/Sup	¿Desde cuándo?

16. Consumo de alcohol:
1. Sí 2.No

17. Consumo de tabaco:
1. Sí 2.No

18. Consumo de café o bebidas con cafeína
1. Sí 2.No



RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL EN SUERO Y LECHE MATERNOS.

Recién nacido

19. Fecha de nacimiento:
20. Hora de nacimiento (horario de 24h): :
21. Sexo:
1. Femenino 2. Masculino
22. Peso:
23. Talla: . cm
24. Vía de nacimiento:
1. Parto vaginal 2. Cesárea
25. APGAR: /
26. Edad gestacional: SDG
27. ¿Planea dar pecho?
1. Sí 2. No
28. ¿Ha recibido algún otro tipo de leche a parte de la materna?
1. Sí ¿Cuál? _____ 2. No

USO DE ANTICONCEPTIVOS/SUPLEMENTOS (ACTUAL)

29. ¿Utiliza algún método anticonceptivo?
1. Sí 2. No
30. ¿Cuál? _____
31. ¿Consume algún suplemento? 1. Sí 2. No

Medicamento/Sup	¿Desde cuando?

Código del encuestador:

Observaciones:
