



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS Y ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD
BIOQUÍMICA CLÍNICA

*PERFIL HORMONAL Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE HUMANA EN DIFERENTES ETAPAS
DE LACTANCIA*

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:
KAREN ITZAYANA ROJAS TORRES

TUTORA
DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

COMITÉ TUTOR
DRA. MARTA ALICIA MENJÍVAR IRAHETA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DRA. BERENICE PALACIOS GONZÁLEZ
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA

CIUDAD DE MÉXICO, 2023

ALUMNA: Q.A. KAREN ITZAYANA ROJAS TORRES

ASESORA: DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS Y ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD
BIOQUÍMICA CLÍNICA

*PERFIL HORMONAL Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE HUMANA EN DIFERENTES ETAPAS
DE LACTANCIA*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

KAREN ITZAYANA ROJAS TORRES

TUTORA

DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

COMITÉ TUTOR

DRA. MARTA ALICIA MENJÍVAR IRAHETA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DRA. BERENICE PALACIOS GONZÁLEZ
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA

CIUDAD DE MÉXICO, 2023

Una firma manuscrita en azul que parece decir "Karen Itzayana".

ALUMNA: Q.A. KAREN ITZAYANA ROJAS TORRES

Una firma manuscrita en rojo que parece decir "Elena Zambrano".

ASESORA: DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ

AGRADECIMIENTOS

A mi alma máter la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de formarme como profesional, crecer como ser humano, hacerme coincidir con personas extraordinarias que marcaron mi vida dentro y fuera de las aulas y sobre todo, por ser la guía para encontrar mi verdadera vocación y pasión en la vida.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas y Odontológicas y de la Salud. Por darme la oportunidad de continuar con mi preparación académica y proporcionarme todas las herramientas necesarias para desarrollar este proyecto.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, a todo el Departamento de Biología de la Reproducción y de forma especial al equipo liderado por la Dra. Elena Zambrano, por permitirme ser parte de este gran grupo que se convirtió en mi familia desde hace 7 años.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante mi estancia en el posgrado.

A todo el personal del Hospital Materno Infantil Magdalena Contreras y la Unidad de Pacientes Ambulatorios (UPA) del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por brindarme todas las facilidades a lo largo de este estudio.

Por último y no menos importante, a todas las mujeres que decidieron participar: por dar su tiempo, interés y compartir un pedazo de su vida. Cada una de ustedes hizo posible esta tesis.

ÍNDICE

Resumen	7
Introducción	8
Marco Teórico	9
<i>Lactancia Materna</i>	9
<i>Lactogénesis</i>	9
<i>Composición de la Leche Materna: Componentes Nutrimientales y Bioactivos</i>	10
<i>Clasificación de la Leche Materna</i>	12
Calostro	12
Leche de Transición	12
Leche de Madura	13
<i>Sistema de Regulación de la Alimentación</i>	13
Regulación a Corto Plazo	14
Regulación a Largo Plazo	15
<i>Regulación Metabólica en Recién Nacidos</i>	16
Hormonas Anorexigénicas	16
Hormonas Orexigénicas	17
Justificación	18
Planteamiento del Problema	18
Pregunta de Investigación	19
Hipótesis	19
Objetivos	19
<i>General</i>	19
<i>Particulares</i>	19
Métodos y Materiales	20
<i>Aprobación</i>	20
<i>Diseño de Estudio</i>	20
<i>Población de Estudio</i>	20
<i>Aplicación de cuestionario</i>	20
<i>Parámetros antropométricos maternos y neonatales</i>	21

<i>Obtención de muestras biológicas</i>	21
<i>Procesamiento y Almacenamiento de Muestras</i>	23
<i>Análisis de Muestras</i>	23
Método de Bradford para cuantificación de Proteína	23
Método de Folch para la cuantificación de Grasa	24
Inmunoensayo con perlas magnéticas para la cuantificación de Hormonas	24
Análisis Estadístico	24
Resultados	26
Discusión de Resultados	39
<i>Características generales maternas y neonatales</i>	39
<i>Composición nutrimental de la leche</i>	40
<i>Perfil hormonal en leche y suero maternos</i>	41
<i>Correlación entre hormonas (séricas y de leche) con datos antropométricos maternos</i>	43
<i>Correlación entre hormonas (séricas y de leche) con la composición nutrimental de la leche</i>	44
Limitaciones y Perspectivas del estudio	45
Resumen de resultados	46
Conclusiones	47
Referencias	48
Anexos	52

RESUMEN

La lactancia es un factor clave para desarrollar mecanismos protectores a corto y largo plazo, ya que la leche materna aporta compuestos nutrimentales para el adecuado desarrollo del neonato, y compuestos bioactivos que participan en la programación del metabolismo y centro del apetito como las hormonas anorexigénicas (leptina e insulina) y orexigénicas (resistina y grelina). **Objetivo:** analizar la composición química de la leche y cuantificar la concentración de estas hormonas en leche y suero maternos en diferentes periodos de lactancia. **Metodología:** estudio de cohorte comparativo dirigido a mujeres mayores de edad en periodo de lactancia materna exclusiva a partir de las 24 horas posparto, provenientes del Hospital Materno Infantil Magdalena Contreras y a través de una convocatoria por medio de redes sociales oficiales del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán. Los grupos de estudio se dividieron en Calostro, Transición y Madura. Se recopilaron datos clínicos y demográficos, así como medidas antropométricas maternas (peso, Índice de Masa Corporal (IMC) y, porcentaje de masa grasa y masa libre de grasa). En la leche se cuantificó el porcentaje de proteína y grasa y, tanto en leche como en suero se analizaron las concentraciones de leptina, grelina, resistina e insulina. Se correlacionaron las concentraciones de las hormonas séricas y de leche con las características antropométricas maternas, composición nutrimental de la leche y las diferentes etapas de lactancia. **Resultados:** se reclutaron a 63 mujeres, de las cuales se obtuvieron 83 pares de muestras séricas y de leche correspondientes a Calostro (n= 20), Transición (n= 22) y Madura (n= 41). Los resultados obtenidos indican que en las hormonas anorexigénicas: la concentración de insulina en leche es mayor en el calostro, no hay diferencia en las concentraciones séricas de insulina durante las tres etapas de lactancia y la concentración de leptina no presenta diferencia entre las concentraciones séricas y de leche. En el caso de las hormonas orexigénicas: la concentración de resistina tanto en leche como en suero materno es mayor en el calostro y las concentraciones de grelina séricas y de leche son similares en todas las etapas. Existió correlación positiva entre las concentraciones de insulina y resistina en leche y suero maternos en las tres etapas de la lactancia, y entre las concentraciones de leptina y grelina existió correlación positiva en la etapa de transición. Se identificó que conforme avanza la lactancia el IMC y la masa libre de grasa (%) maternos disminuyeron, pero la masa grasa (%) aumentó. Finalmente, la correlación que existe entre la antropometría materna con la presencia de estas hormonas en el suero y la leche materna, con excepción de la insulina, es estadísticamente significativa principalmente con respecto al IMC y la masa grasa (%). **Conclusiones:** La etapa de calostro es diferente tanto en el perfil hormonal (leche y suero) y composición nutrimental (leche) respecto a las etapas de transición y madura. Durante la etapa de transición suceden los cambios más significativos respecto a la concentración de las hormonas estudiadas y la correlación con características antropométricas maternas. Los resultados obtenidos en esta investigación reafirman la presencia y diferencia que existe entre cada etapa de lactancia respecto a los componentes nutrimentales en leche y hormonas anorexigénicas y orexigénicas séricas y de leche.

INTRODUCCIÓN

Los primeros 1000 días de vida son cruciales en la *programación del desarrollo*, la cual propone que estímulos del ambiente externo durante una ventana crítica pueden generar una respuesta fisiológica en el individuo y e influir en la predisposición a enfermedades crónicas a lo largo de la vida [1, 2]. La mayoría de estos estudios se enfocan en la etapa de gestación, sin embargo, se han propuesto varias hipótesis para demostrar que la lactancia es un factor clave para desarrollar mecanismos protectores a corto y largo plazo tanto en la salud del hijo y la madre [3]. En contraste, los sucedáneos de leche materna se han asociado a una rápida ganancia de peso en los recién nacidos y en consecuencia, para el desarrollo de obesidad y alteraciones metabólicas a lo largo de la vida [3]; mientras que en la mujer existe menor riesgo de padecer cáncer de mama y de ovario, así como menor probabilidad de desarrollar obesidad [1].

Actualmente nuestro país enfrenta un problema de salud pública derivado de enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes tipo 2 y la obesidad. Además de los factores de riesgo comunes tales como predisposición genética, inactividad física y malos hábitos alimentarios [4], se suma el bajo índice de lactancia reportado. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Continua de 2021 [5] indicó que de 2018 a 2021 se observó que la lactancia materna exclusiva en niños de 0 a 5 meses pasó de 28.6% a 35.9%, sin embargo, aún es considerado como un bajo porcentaje. Es relevante mencionarlo, debido a que diversos estudios epidemiológicos demuestran que la lactancia materna tiene la capacidad de influir en el desarrollo y programación del metabolismo del neonato, que le permiten formar mecanismos protectores para disminuir su predisposición a enfermedades metabólicas crónicas importantes a lo largo de la vida [1, 2, 6, 7]. Estos efectos benéficos se deben en gran medida a los componentes bioactivos presentes en la leche materna, entre ellos, hormonas reguladoras del metabolismo, conocidas como anorexigénicas y orexigénicas que se encargan de inhibir y estimular el apetito, respectivamente [7, 8].

MARCO TEÓRICO

LACTANCIA MATERNA

La *Lactancia Materna* es el tipo de alimentación proporcionada al recién nacido a través de la leche producida en el seno materno [9], se le denomina *exclusiva* a aquella en la que el lactante no consume algún otro tipo de alimento más que leche materna [10]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (por sus siglas en inglés UNICEF) recomiendan que la alimentación al seno materno sea a libre demanda y exclusiva durante los primeros 6 meses, y continúe su consumo hasta los 2 años de edad, aun cuando se inicie la alimentación complementaria [10, 11].

La leche materna es una secreción de la glándula mamaria compleja y biodinámica debido a los cambios graduales en su producción y composición. Es considerada el “estándar de oro” en la alimentación infantil, ya que proporciona una nutrición óptima al ser el alimento completo y personalizado por su calidad, consistencia, temperatura, composición y equilibrio de nutrientes y componentes bioactivos necesarios durante los primeros meses de vida [1, 7, 12].

Como se mencionó anteriormente, la leche materna es una secreción biodinámica que presenta variaciones en la concentración de componentes nutritivos y bioactivos tanto en el ciclo diario como a lo largo de todo el periodo de lactancia. Diversos factores como la edad, genotipo, dieta y estado de salud maternos, así como la etapa de lactancia, fracción de leche y hora del día, influyen en la composición de la leche materna. Estos cambios son el resultado de los requerimientos de un niño en crecimiento y la adaptabilidad para satisfacer las necesidades del lactante [1, 13-16]. Otro de los factores que influye es el tiempo de gestación, ya que diversos estudios han demostrado diferencias entre la composición de la leche materna de las madres de niños prematuros y la de los niños a término. Las madres de prematuros producen durante los primeros meses leche con un contenido mayor de sodio, proteínas, grasas, calorías y, tanto la lactoferrina como la IgA son más abundantes [11, 17, 18], lo cual responde a las necesidades particulares de los prematuros.

LACTOGÉNESIS

La *lactogénesis* es el proceso de desarrollo de la capacidad de secretar leche e implica la maduración de las células alveolares. Se divide en dos etapas: la iniciación de la secreción y la activación de la secreción [19]. La primera etapa, o iniciación de la secreción, comienza durante la segunda mitad del embarazo en donde los estrógenos y la progesterona son secretados por la placenta para el desarrollo de

las mamas e inhibir la secreción de leche, sin embargo, la prolactina estimula esta secreción y su concentración en sangre va aumentando constantemente desde la quinta semana de la gestación hasta el nacimiento del neonato. Gracias a que la placenta también secreta altas concentraciones de somatomotropina coriónica que coadyuva la acción de la prolactina, al final del embarazo, algunas mujeres pueden secretar calostro [19, 20]. La segunda etapa, o activación de la secreción, comienza después del parto con la eliminación de la placenta, la rápida caída de las concentraciones de estrógenos y progesterona, así como la presencia de concentraciones elevadas de prolactina, cortisol e insulina, hormonas que estimulan esta etapa. Por lo general a los 2 o 3 días posparto, la mayoría de las mujeres experimentan una hinchazón del pecho junto con una abundante producción de leche [19, 20].

Si la segunda etapa inicia después de las 72 horas posparto se presenta la “Lactogénesis Retrasada II” (DLII, por sus siglas en inglés) [21]. Existen diversos factores maternos que están asociados a esta condición, entre ellos, un IMC alto, la edad avanzada para el embarazo, madre primigesta, presencia de diabetes gestacional, cesárea, consumo de medicamentos posparto y residuos de placenta en el útero [19, 21].

COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA: COMPONENTES NUTRIMENTALES Y BIOACTIVOS

La leche materna contiene alrededor de 88% de agua y es la principal fuente de hidratación en los neonatos [8]. Los componentes nutrimentales incluyen proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas y nutrimentos inorgánicos [13, 22], además, proporciona componentes bioactivos como factores de crecimiento e inmunológicos, probióticos, prebióticos y hormonas peptídicas que intervienen en la regulación temporal de importantes funciones fisiológicas [7].

Debido a que contiene mayores concentraciones de proteínas en forma de compuestos bioactivos como inmunoglobulinas, hormonas, enzimas, factores de crecimiento y antioxidantes, se ha demostrado que su función principal no es nutrir, sino transferirle al neonato estos compuestos bioactivos que aseguran, entre otras funciones, la inmunización pasiva, el acondicionamiento gastrointestinal, la reducción del estrés oxidativo, la colonización competitiva por parte de la microbiota no patógena y la regulación de los procesos biorrítmicos y neurocognitivos, especialmente durante las primeras semanas de vida [13, 23, 24]. Entre las proteínas más relevantes se encuentran las caseínas y las proteínas del suero. Las caseínas poseen funciones antimicrobiana (principalmente en el calostro) y de saciedad (al combinarse la cuajada con el ácido del estómago); y las proteínas del suero contienen principalmente anticuerpos que le proporcionan factores inmunitarios a los recién nacidos [25].

Los lípidos son la principal fuente de energía que proporciona la leche materna al neonato y se considera el componente más variable debido a diversos factores tanto maternos como de lactancia [11, 26]. Aportan nutrientes indispensables, como ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), vitaminas liposolubles y lípidos complejos, además intervienen en la función gastrointestinal, el metabolismo de los lípidos y las lipoproteínas, la composición y la función de las membranas, el crecimiento del lactante, su neurodesarrollo y la función inmunitaria [26, 27]. Se ha demostrado que el perfil de ácidos grasos esenciales, AGPIs y ácidos grasos de cadena media (C8-C14) que presenta la leche materna, depende de la dieta de la madre [28].

La lactosa es el principal hidrato de carbono que contiene la leche materna y es considerado como el componente menos variable [13, 17, 29], su función es mejorar la absorción del calcio, favorecer el desarrollo de la microbiota intestinal por las *Bifidobacterias* e impedir el crecimiento de microorganismos patógenos [9]. La leche materna también cuenta con otras estructuras complejas llamadas oligosacáridos, los cuales no proporcionan energía, sino son utilizados en el colon para la formación de la microbiota intestinal del lactante para estimular de forma selectiva el crecimiento de bacterias específicas, especialmente las *Bifidobacterias* [30].

Además, la leche materna contiene vitaminas liposolubles (A, D, E y K) e hidrosolubles (C y grupo B), así como nutrientes inorgánicos como el calcio, fósforo, hierro y zinc. Estos componentes son esenciales para llevar a cabo importantes funciones fisiológicas [22]. Cabe mencionar que estos componentes presentan una muy alta biodisponibilidad respecto a los que se encuentran en la leche de vaca, independientemente de la variabilidad en las concentraciones a lo largo de la lactancia. Por ejemplo, el lactante absorbe el hierro entre el 45 y 75% del contenido total de la leche materna, respecto al 10% que absorbe de la leche de vaca [11].

Entre los compuestos bioactivos se encuentran factores de crecimiento, los cuales impactan en el tracto gastrointestinal, la vasculatura, el sistema nervioso y endocrino del lactante [29]. Los factores inmunitarios tienen propiedades multifuncionales y antiinflamatorias. También se encuentran hormonas anorexigénicas y orexigénicas que inhiben y estimulan el apetito, respectivamente, las cuales tienen un efecto en la programación del metabolismo y del centro del apetito desde las primeras etapas de vida [7, 8, 25, 31].

CLASIFICACIÓN DE LA LECHE MATERNA

Con base en el tiempo de lactancia desde el parto y los cambios graduales en su producción y composición a lo largo de ella, la leche materna se puede clasificar en tres tipos: calostro, leche de transición y leche madura [12, 32].

CALOSTRO

El calostro es un fluido espeso de color amarillo claro, denso y de poco volumen, producido por la glándula mamaria durante los primeros cinco días postparto [1]. Es considerado como el tipo de leche materna más importante, debido a su alta concentración de componentes inmunitarios [32], entre los que destacan la IgA y lactoferrina que, junto a la gran cantidad de linfocitos y macrófagos, le confieren la condición protectora al recién nacido [17]. Además, por su contenido de motilina tiene efectos laxantes que ayudan a la evacuación de meconio¹ [11]. Respecto a etapas posteriores de lactancia, presenta una alta concentración de proteína total de 2% [33], en donde la proporción de suero/caseína es de (90:10) [14] y el doble de oligosacáridos respecto a la leche madura [13]; mientras que contiene una menor concentración de lípidos (2.9%) y lactosa (5.5%) [17].

Los componentes bioactivos presentes en el calostro tienen la capacidad de influir en el desarrollo y la función posterior en la programación del metabolismo del neonato, ya que le permiten formar mecanismos protectores para disminuir su predisposición a enfermedades crónicas importantes a corto y largo plazo [7, 18]. En el corto plazo, se encuentran la reducción de la enterocolitis necrosante y los reingresos al hospital en el primer año de vida. En el largo plazo, tienen un impacto en el desarrollo neurológico y un menor riesgo de obesidad en la infancia y la etapa adulta [8, 18].

LECHE DE TRANSICIÓN

A partir del día 5 hasta el 14 después del parto, el calostro será gradualmente remplazado por la leche de transición [1]. Con el fin de ajustarse a las necesidades nutrimentales y de desarrollo del lactante, durante esta fase se producen los cambios más significativos respecto a la composición y la producción de la leche materna [34]. En comparación con el calostro, tanto el volumen producido como la concentración de lactosa, grasa y vitaminas hidrosolubles es mayor; sin embargo, a partir de esta fase el

¹ Primera evacuación del neonato compuesto de líquido amniótico, moco, lanugo (vello fino que cubre el cuerpo del bebé), bilis y células que se han desprendido de la piel y el tracto gastrointestinal. *Biblioteca Nacional de Medicina (NIH)*.

perfil de lípidos, específicamente de ácidos grasos de cadena media, comienza a ser más amplio [14]. Por el contrario, tanto los componentes inmunológicos (como la lactoferrina e IgA) y la concentración de proteínas totales (1.3%) disminuyen y cambia la proporción de suero/caseína a (60:40) [29, 35, 36].

LECHE DE MADURA

La leche madura es la combinación de las fracciones de la “leche inicial” y la “leche final” [1], su producción comienza a partir del día 15 y, se considera completamente madura entre la cuarta y sexta semana después del nacimiento [35]. En contraste con el cambio radical observado en el calostro y la leche de transición, a partir de esta etapa la leche materna presenta cambios sutiles en su composición durante el transcurso de la lactancia [29].

Las grasas constituyen la principal fuente de energía del lactante aportando el 50% del valor energético total, y en comparación con el calostro, su concentración es mayor (3.5-4.5%) [20]. Entre los factores que influyen en la variabilidad de su composición, se encuentra la fracción de leche eyectada [26]. La primera fracción que sale de la glándula mamaria se denomina “leche inicial”, la cual se caracteriza por ser fina, acuosa y con poca grasa y, tiene como finalidad hidratar al lactante. En cambio la “leche final”, o última fracción, es más espesa y su objetivo es satisfacer las necesidades energéticas del lactante [1, 26, 27]. Esta diferencia se presenta debido a la variabilidad en la concentración de lípidos, la cual depende de diferentes factores como edad, genotipo, dieta y estado de salud maternos, etapa de lactancia, hora del día, volumen de producción y fracción de leche [1, 11, 13-15]. La concentración de proteínas totales es de 1-1.5%, y al igual que en la leche de transición, presenta una proporción de suero/caseína de (60:40) [20, 36]. La concentración de lactosa es de aproximadamente 7% y representa el 40% del valor energético total [17].

SISTEMA DE REGULACIÓN DE LA ALIMENTACIÓN

Este sistema que modula la ingesta de alimentos a corto plazo (mediante el inicio y término de cada alimento) y el gasto energético a largo plazo (regulando el peso corporal y reserva de grasa), consiste en una densa y compleja red de circuito regulada por señales neuro-hormonales que son integradas en el hipotálamo a nivel del núcleo arcuato (Naq) y, se agrupan con base en el sitio donde se originan (*centrales* en sistema nervioso central (SNC) o *periféricas* en órganos y tejidos), en la duración (corto o largo plazo) o señales moleculares (*efectos orexigénicos* que activan vías anabólicas o *efectos anorexigénicos* que activan vías catabólicas) [37-40]. En el Naq se han descrito principalmente 2

regiones con funciones contrapuestas: ventromedial y lateral. La región ventromedial es denominada el centro de la saciedad, ya que su estimulación inhibe el deseo de comer, mientras que a la región lateral se le considera el centro del apetito, ya que su estimulación genera hambre [37-39].

En el corto plazo, las señales provenientes de los sistemas nervioso y gastrointestinal llegan al hipotálamo a través de señales químicas sobre la presencia de nutrientes a nivel sanguíneo (como glucosa, aminoácidos y ácidos grasos) para determinar la señal de saciedad, con la finalidad de impedir el consumo en exceso y situaciones que comprometan la disponibilidad de energía [39, 41]. En tanto que a mediano y largo plazo, son más importantes los mediadores que provienen del tejido adiposo y sistema endocrino, así como las condiciones generales de salud, ya que estas señales pueden informar al SNC acerca del estado de la homeostasis de la energía, y de esta manera, inducir cambios en el comportamiento alimentario y balance energético [39, 40].

REGULACIÓN A CORTO PLAZO

La vía orexigénica se encarga de regular la ingesta alimentaria por medio del hambre y apetito y, tiene como finalidad asegurar la ingesta inmediata o a corto plazo de nutrientes cuando un individuo se encuentra en periodos de ayuno prolongado o las reservas de energía no son suficientes para cubrir el gasto estimado en el siguiente periodo de tiempo [37, 39, 41]. En esta vía participan diversos factores *neurosensoriales* como receptores visuales, olfatorios y gustativos; *gastrointestinales* debido a la contracción rítmica gástrica; *metabólicos* como el nivel descendiente de glucemia (al 12%); *señales moleculares periféricas* por hormonas que se liberan del tracto gastrointestinal, principalmente grelina; y *señales moleculares centrales* que estimulan el apetito con preferencia hacia un nutriente en específico, como el caso de la noradrenalina con los hidratos de carbono [38]. Los estímulos a nivel periférico comienzan por la secreción de grelina en el estómago, esta hormona atraviesa la barrera hematoencefálica y actúa sobre el NPY en donde activará los receptores del Neuropéptido Y (NPY) y el péptido relacionado con la proteína Agouti (AgRP) y, debido a la inhibición del metabolismo de glucosa y lípidos, también se incrementa la expresión de la hormona concentradora de melanina (MCH) [38, 41]. Tanto la grelina, como el NPY y la AgRP son inhibidos por señales de saciedad derivadas de la leptina, insulina y glucosa [41].

La vía anorexigénica está regulada por señales de llenado y saciedad, las cuales dependen tanto del tamaño de porción como el aumento en la ingesta de alimentos después de un periodo de ayuno y en cada tiempo de comida, así como la fase de término de la alimentación [37, 38]. En esta vía participan

diversos factores *gastrointestinales post-absorción* que limitan el tamaño de la porción durante cada tiempo de comida como receptores mecánicos y químicos, y concentración de nutrimentos; *metabólicos* como el aumento del nivel de glucemia; y *señales moleculares periféricas* por la producción de colecistoquinina (CCK) y péptido YY (PYY) [38]. Los estímulos a nivel periférico comienzan con la secreción de CCK y PYY, los cuales son producidos en el estómago en respuesta a productos digeridos en el lumen intestinal y generan contracción en la vesícula biliar y liberación de enzimas pancreáticas [39, 41]. Posteriormente, la CCK y el PYY envían una señal periférica a través del nervio vago que termina en el núcleo del tracto solitario y el núcleo parabraquial [37-39, 41]. Finalmente llegan al Naq, específicamente al núcleo ventromedial, en donde estimulan la producción de melanocortinas, que son péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC), con lo cual se induce la saciedad [37].

REGULACIÓN A LARGO PLAZO

El balance energético a largo plazo tiene como objetivo mantener el peso y la composición corporal constante por periodos largos (meses o años) por medio de mecanismos que controlan el consumo de alimentos y el gasto energético, tanto para almacenar energía en las fases post-pandriales (digestión y absorción de nutrimentos, glucogénesis y lipogénesis), como para su liberación durante las fases de ayuno (glucogenólisis, lipólisis y gluconeogénesis) [38, 39]. Los mecanismos de control de la homeostasis energética son originados fuera del SNC y, las señales moleculares que participan son mediadas por hormonas y neuropéptidos anorexigénicos y orexigénicos [38, 40].

La vía orexigénica regula el hambre y apetito con la finalidad de mantener o ganar peso corporal, así como de activar los mecanismos que inhiben el gasto energético [37]. Se destacan como mediadores el NPY, la AgRP, la galanina y grelina. El NPY aumenta en presencia de grelina y disminuye con concentraciones elevadas de leptina e insulina. Su función biológica es regular el peso corporal gracias a que incrementa la ingesta de alimentos (especialmente hidratos de carbono, disminuye la termogénesis y estimula la síntesis de enzimas lipogénicas en el hígado y tejido adiposo [37, 38]. La AgRP tiene efectos orexigénicos en especial para dietas con alto contenido en grasa y sacarosa, además disminuye la termogénesis y condiciona la ganancia de peso, su secreción se eleva durante el ayuno y en presencia de concentraciones bajas de leptina [38]. La galanina cuenta con un potente efecto orexigénico que aumenta la ingesta de lípidos preferentemente y se ha descrito que tiene un papel importante en la regulación del comportamiento alimentario [37, 38]. La grelina, conocida como la *hormona del hambre*, se sintetiza principalmente en el estómago y tiene la función de estimular la ingestión de alimentos;

además se correlaciona negativamente con la masa grasa corporal y, es sensible a la dieta y los cambios inducidos por el ejercicio [37, 38, 41].

REGULACIÓN METABÓLICA EN RECIÉN NACIDOS

A diferencia del adulto que utiliza el sistema endocrino y el SNC para mantener su homeostasis, el feto depende de la madre y de la placenta para regular su medio interno por lo que no necesita realizar gluconeogénesis activa [42, 43], pero al momento del nacimiento el recién nacido se enfrenta a un cambio obligado de ambiente y comienza su adaptación a la vida extrauterina de forma inmediata y sucesiva a nivel respiratorio, cardiovascular, térmica, glucémica y digestiva [44]. De manera general, la glucemia comienza a regularse cuando las catecolaminas aumentan de manera dramática y estimulan la liberación de GH (hormona del crecimiento), glucagón y cortisol; el incremento de catecolaminas y glucagón promueven la glucogenólisis hepática, mientras que los picos de GH y cortisol regula la gluconeogénesis. Posteriormente, los niveles de insulina descienden inicialmente y permanecen en valores bajos durante varios días permitiendo la estimulación de la gluconeogénesis endógena [43].

En el caso del aparato digestivo, aunque es capaz de digerir y absorber los nutrientes presentes en la leche materna, se encuentra inmaduro al momento del nacimiento [42]. Sin embargo, la mucosa gastrointestinal cuenta con receptores específicos para hormonas intestinales, las cuales ayudan a la estimulación del crecimiento y desarrollo del tracto gastrointestinal, así como a la regulación alimentaria [3]. Se ha identificado que las hormonas anorexigénicas y orexigénicas durante la lactancia tienen un efecto en la programación del metabolismo y del centro del apetito del lactante, ya que le permiten al neonato el autocontrol respecto a la cantidad de leche que consumen y a aprender a autorregular su consumo de energía [3, 7, 8, 31].

HORMONAS ANOREXIGÉNICAS

La leptina es un polipéptido compuesto por 167 aminoácidos sintetizado principalmente en el tejido adiposo, sin embargo, ahora se sabe que también tiene receptores en algunos órganos y tejidos como la mucosa gástrica y el epitelio mamario. Su función biológica es disminuir el apetito y aumentar el gasto energético a corto plazo y, regular la ganancia de peso a largo plazo [16]. La expresión de esta hormona es proporcional a la cantidad de grasa corporal; mientras que su secreción está mediada por el ritmo circadiano a través de un ritmo diurno pulsátil con una frecuencia de un pulso cada 45 minutos y

alcanzando su pico máximo de concentración a medianoche [16, 45]. La leptina presente en la leche materna proviene de la circulación materna y también es sintetizada por las células epiteliales mamarias [7, 46]. Durante la lactancia temprana tiene un papel importante en el crecimiento neonatal, disminuir la ingesta de alimentos y aumentar el gasto energético [8, 46], asimismo es considerada la principal fuente de leptina en el neonato, siendo absorbida por la mucosa gástrica y transferida al torrente sanguíneo [14, 46, 47].

La insulina es una hormona peptídica secretada por las células β en los islotes pancreáticos de Langerhans en respuesta a varios estímulos, incluyendo la ingesta de alimentos y se relaciona con la homeostasis de la glucosa en sangre y el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas [48, 49]. La insulina presente en la leche materna proviene de su síntesis en el páncreas materno y se transfiere a través del torrente sanguíneo hasta la glándula mamaria, sin embargo, algunos estudios sugieren que las células epiteliales mamarias también la pueden producir [48, 50]. Se ha reportado una mayor concentración de esta hormona en el calostro y rápida disminución a lo largo de los días, de tal forma que la concentración en leche iguala a la concentración sérica materna al quinto día posparto [50]. La concentración de insulina en la leche materna se ha correlacionado con la adecuada ganancia de peso durante los primeros meses de vida y maduración intestinal [14]. Investigaciones recientes han reportado que no existe una variación de la concentración de insulina en la leche materna debido a la edad gestacional, sin embargo, se observa una correlación positiva con el IMC pregestacional [31, 49].

HORMONAS OREXIGÉNICAS

La resistina es un polipéptido compuesto por 114 aminoácidos sintetizado principalmente en el tejido adiposo blanco. Es antagonista de la insulina, y por ello, se ha sugerido como un vínculo importante entre la obesidad, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 [31, 51]; durante el periodo perinatal, inmediatamente después del parto, podría estar involucrada en la regulación del apetito y en la homeostasis metabólica neonatal [7]. Se ha reportado una concentración mucho mayor en el suero materno de 5800 pg/ml respecto a la leche materna de hasta 1910 pg/ml durante los primeros 3 días después del nacimiento y posteriormente, disminuir su concentración a lo largo de la lactancia llegando a 2340 pg/ml en suero materno y 180 pg/ml en leche [31]. Se ha reportado una correlación positiva de resistina entre leche y suero maternos [51].

La grelina es un péptido compuesto por 28 aminoácidos secretado por la mucosa gástrica y es una de las principales hormonas orexigénicas, además, participa en la motilidad intestinal, interviene en

la homeostasis energética y, regula la biosíntesis de insulina y la sensibilidad a la glucosa [31, 51]. Se ha reportado una concentración de grelina de aproximadamente el doble tanto en calostro de 27-62 pg/ml como en leche madura de 30-77 pg/ml, respecto al suero materno de 40-50 pg/ml. Se ha reportado una correlación positiva de grelina entre leche y suero maternos, tampoco existe evidencia que indique asociación entre la concentración de grelina en leche y la antropometría materna. [31].

JUSTIFICACIÓN

La mayoría de los estudios experimentales acerca de programación se han enfocado a analizar la interacción entre los genes y el medio ambiente durante la gestación [1]. Sin embargo, en los últimos años diversos estudios epidemiológicos han demostrado un vínculo significativo entre la nutrición neonatal y los trastornos metabólicos en etapas posteriores de la vida [3]. Por ello, es relevante identificar y analizar los diversos factores ambientales, maternos y de lactancia que pueden tener un impacto significativo en la programación metabólica del neonato.

Se ha demostrado que la lactancia materna es una ventana crítica del desarrollo que tiene un impacto positivo en la salud de un individuo, no sólo en etapas tempranas, sino durante todo el ciclo de la vida. Estos efectos benéficos se deben en gran medida a los componentes bioactivos presentes en la leche materna, entre ellos, las hormonas reguladoras del metabolismo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dado que los estudios que describen a las hormonas orexigénicas y anorexigénicas durante el periodo de lactancia son limitados, es relevante explorarlas desde etapas muy tempranas y a lo largo de la lactancia para conocer sus modificaciones, concentración y correlación con las características maternas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la concentración de las hormonas insulina, leptina, resistina y grelina presentes en leche y suero maternos en diferentes etapas de lactancia?

HIPÓTESIS

La concentración de las hormonas reguladoras del metabolismo energético presentes en leche y suero maternos, así como la composición nutrimental de la leche se irán modificando en las diferentes ventanas de lactancia y presentarán correlación con características antropométricas maternas.

OBJETIVOS

GENERAL

Analizar 4 hormonas (insulina, leptina, resistina y grelina) relacionadas con la regulación del metabolismo energético en leche y suero maternos y, los componentes nutrimentales (proteína y grasa) presentes en leche materna de madres mexicanas en diferentes etapas de lactancia.

PARTICULARES

- Estandarización de la toma de muestra de leche materna.
- Estandarización de inmunoensayo con perlas magnéticas para cuantificar las hormonas estudiadas en leche y suero maternos.
- Cuantificar la concentración de hormonas anorexigénicas y orexigénicas en leche y suero maternos en diferentes periodos de lactancia.
- Correlacionar la concentración de leptina, insulina, resistina y grelina entre la leche y suero maternos en cada etapa de lactancia.
- Evaluar parámetros antropométricos maternos previos y durante embarazo, así como actuales para determinar su correlación con las hormonas y componentes nutrimentales estudiados.

MÉTODOS Y MATERIALES

APROBACIÓN

Este protocolo fue evaluado y aprobado por los Comités de Ética y de Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) con el registro “BRE-2060” (**Anexo 1**) y por la Secretaría de Salud de la Ciudad de México con el registro 404/001/01/16 (**Anexo 2**).

DISEÑO DE ESTUDIO

Estudio comparativo, prospectivo, prolectivo y analítico. Muestreo por conveniencia.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Las mujeres fueron reclutadas en el Hospital Materno Infantil Magdalena Contreras (HMIMC) y a través de una convocatoria por medio de redes sociales oficiales del INCMNSZ.

- Criterios de inclusión: mujeres mayores de edad en periodo de lactancia materna exclusiva a partir de las 24 horas posparto.
- Criterios de exclusión: contraindicación de la lactancia por absceso mamario, consumo de drogas, retraso mental, autismo, alteraciones psiquiátricas y/o VIH por parte de la madre. Contraindicación de lactancia por galactosemia y/o déficit congénito de lactasa.
- Criterios de eliminación: no obtener muestra de leche y/o incorporación de sucedáneo.

Los grupos de estudio se dividieron en:

- Calostro. Muestras de leche materna recolectadas durante las primeras 48 horas
- Transición. Muestras de leche materna recolectadas durante la primera semana posparto.
- Madura. Muestras de leche materna recolectadas a partir del primer mes posparto en adelante.

APLICACIÓN DE CUESTIONARIO

Se aplicó un cuestionario sociodemográfico que incluía datos generales, demográficos e historia obstétrica de las participantes (antes y durante embarazo, y al momento de la toma de la muestra). En el caso de los neonatos, se recabó información proporcionada por la madre e historia clínica sobre la edad gestacional, el peso (kg) y longitud (cm) al nacimiento, vía de nacimiento y sexo. Se recopiló

información sobre las participantes (datos generales, medidas antropométricas e historia obstétrica) y de los neonatos (semanas de gestación, peso y longitud al nacimiento, sexo y vía de nacimiento)

PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS MATERNOS Y NEONATALES

Al momento de la toma de muestra se tomaron medidas antropométricas maternas. La estatura (cm) se midió con un estadiómetro portátil de la marca *SECA® 217*. El peso corporal (kg) y composición corporal: Índice de Masa Corporal (IMC), masa grasa (%) y masa libre de grasa (%) se evaluaron con el analizador de composición corporal de la marca *InBody DIAL®*, según las instrucciones del fabricante.

Para evaluar si las participantes lograron ganar peso adecuadamente durante el embarazo, se tomaron como referencia datos previos al embarazo como el peso pregestacional y el IMC. Ambas variables se calcularon con base en la talla registrada durante la toma de la muestra y el peso pregestacional referido por las mujeres. Dado que expresar los resultados en conjunto no refleja de forma adecuada el estado de salud materno previo al embarazo, se realizó una clasificación con base en el IMC pregestacional del total de las participantes y se analizó caso por caso si la ganancia de peso al final del embarazo correspondía a la recomendada con base en los valores reportados en la NOM-007-SSA-2016 [9].

El peso (kg) y longitud (cm) neonatal se obtuvieron por medio de la madre y/o historia clínica. A partir de estos datos, para determinar si el peso al nacer en relación con la edad gestacional era el adecuado, se evaluó el crecimiento intrauterino con base en las gráficas de Battaglia/Lubchenco y Jurado García [9].

OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Las muestras se obtuvieron en un horario de 7:00-10:00 horas. El reclutamiento y toma de muestras en HMIMC se llevaron a cabo en las áreas de “Tamiz metabólico” y “Ginecología y Obstetricia”. Por otro lado, se programaron citas para la toma de muestras en el área de Unidad de Pacientes Ambulatorios (UPA) del INCMNSZ a las mujeres que se reclutaron a través de redes sociales.

En el caso de las mujeres de HMIMC, particularmente en el área de Ginecología y Obstetricia durante las primeras horas posparto, la invitación a participar en el protocolo se realizó de manera personal, respetuosa, amable y no invasiva, siempre mostrando empatía, confianza y apoyo a las mujeres. Es importante mencionar que durante este período, las mujeres están extremadamente sensibles

e irritables por varias razones como los procedimientos durante el nacimiento del bebé, las horas de ayuno, el control médico constante, la visita de trabajadores sociales, las pocas horas de sueño y las complicaciones de la madre o del recién nacido, entre otras.

El procedimiento comenzó con la toma de muestra sanguínea (6 ml) a la participante utilizando un tubo *Vacutainer BD*[®] sin aditivos. Después de 30 minutos de la toma sanguínea se realizó la extracción de leche.

Finalmente, con base en la técnica estandarizada de extracción que este grupo realizó, las muestras se recolectaron utilizando un extractor de leche de uso hospitalario marca *Medela Symphony Plus*[®] que incluye una fase de estimulación y otra de extracción, además se puede programar con base en la ventana de lactancia en la que se tome la muestra. Para la elección del pecho donde se tomó la muestra, se les solicitó a las participantes no amamantar al bebé o extraerse leche al menos 1.5 horas antes de la toma. En la toma de calostro no fue necesario solicitar ese periodo, ya que las mujeres alimentan constantemente a los neonatos y es muy poco el volumen que se produce durante esta etapa.

La extracción de leche comenzó con la limpieza del seno con una gasa y agua destilada, enseguida se eligió la talla del embudo que se colocó en el seno con base en el tamaño y forma del pezón. Para la muestra de calostro se utilizó el programa “INITIATE” (incluido en el extractor) con duración de 15 minutos, el cual lleva a cabo una estimulación y extracción similar a la succión irregular del recién nacido. Transcurrido ese tiempo se retiró el embudo del seno y se limpió con una gasa humedecida con agua destilada.

En contraste con el calostro, para las muestras de leche de transición y madura no existió un tiempo definido entre la estimulación y extracción, ya que este periodo depende del tiempo transcurrido entre la última vez que la mujer amamantó al neonato o se extrajo leche, hasta el momento de la toma de la muestra. Dado que el seno nunca se vacía en su totalidad y es capaz de producir leche constantemente, es importante considerar el ritmo y forma de eyección para coleccionar la primera, media y última fracción de la leche materna y poder identificar el momento adecuado para detener la extracción. En trabajos anteriores realizados por este grupo de trabajo, se describen a gran detalle los patrones de eyección de leche identificados, así como algunas consideraciones hacia la madre [52] . Después de la extracción se retiró el embudo del seno y se limpió con una gasa humedecida con agua destilada.

PROCESAMIENTO Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

El volumen extraído de leche se cuantificó, posteriormente se homogeneizó para obtener una muestra significativa y finalmente se separó en alícuotas en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml. Las muestras de sangre venosa se recolectaron en un tubo *Vacutainer BD*[®] sin aditivos, posteriormente se centrifugaron a 2000 rpm a 4°C por 15 minutos y finalmente se separó el suero en alícuotas en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml. Las muestras biológicas se mantuvieron en una cadena de frío desde su obtención, traslado y hasta el momento de su almacenamiento. Tanto las muestras de sangre como de leche se guardaron en ultracongelación a -70°C hasta el momento de su análisis.

ANÁLISIS DE MUESTRAS

Con las muestras de suero se realizó la cuantificación de hormonas (leptina, insulina, resistina y grelina) mediante inmunoensayo, utilizando el kit comercial *Bio-Plex Pro*[™] *Diabetes Assay Panels* Catálogo#171^a7001M, adquirido de *Bio-Rad Laboratories, Inc*[®], California, EE.UU.

Los análisis que se realizaron a las muestras de leche fueron la cuantificación de grasa por la técnica de Folch y proteína por la técnica de Bradford. También se llevó a cabo la cuantificación de hormonas (leptina, insulina, resistina y grelina) mediante inmunoensayo, utilizando el kit comercial *Bio-Plex Pro*[™] *Diabetes Assay Panels* Catálogo#171^a7001M, adquirido de *Bio-Rad Laboratories, Inc*[®], California, EE.UU.

MÉTODO DE BRADFORD PARA CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA

Este método se basa en la propiedad del colorante azul de Coomassie brillante G-250 de unirse a residuos de proteínas produciendo una absorbancia máxima de 595 nm [34]. En primer lugar se realizó una curva de BSA (Albúmina de Suero Bovino) por duplicado en el rango de 0 a 10 µg/ml. Debido a que la concentración de proteína en la leche materna varía durante la lactancia, se ajustó a diferentes diluciones de acuerdo a la etapa que pertenece la muestra: calostro de (1:100), transición de (1:50) y madura de (1:20). Se preparó 1 ml de solución con una dilución 1:100 y se agitó vigorosamente. Se centrifugaron las diluciones a 14,000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 4°C. Se separó la fase superior. Se tomaron 10 µl de muestra, se colocó en una placa y se añadieron 200 µl de reactivo de Bradford. La placa se cubrió con papel aluminio y se dejó actuar por 10 minutos. Se midió a una absorbancia de 595 nm. La concentración de proteína se reportó en gramos/100 ml.

MÉTODO DE FOLCH PARA LA CUANTIFICACIÓN DE GRASA

Esta técnica 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 [35].

Se utilizaron 200 µl de calostro que se colocan en un tubo de ensayo puesto previamente a peso constante, se añadió 5.4 ml de una mezcla de Cloroformo/Metanol (2:1) y 1.8 ml de cloruro de sodio (NaCl) al 0.7%, se agitó vigorosamente y se centrifugó durante 15 minutos a 2000 rpm a una temperatura de 4°C, al finalizar este paso se extrajo cuidadosamente la fase superior y la fase inferior se transfirió a un tubo de ensayo puesto previamente a peso constante. Los tubos se colocaron en un baño de agitación a 60°C en una campana de extracción para evaporar la mezcla de solventes durante 2 horas, posteriormente se retiraron del baño y continuaron en la campana de extracción durante 15 minutos más. Transcurrido este tiempo, cada uno de los tubo se pesó en la balanza analítica y se colocaron nuevamente en la campana de extracción, después de 24 horas nuevamente se pesaron hasta alcanzar su peso constante. Los gramos de grasa/100 ml son determinados por gravimetría.

INMUNOENSAYO CON PERLAS MAGNÉTICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS

Para la cuantificación se utilizó el kit comercial *Bio-Plex Pro™ Diabetes Assay Panels* Catálogo# 171^a7001M, adquirido de *Bio-Rad Laboratories, Inc®*, California, E.U. Consiste en un inmunoensayo utilizando perlas magnéticas, en donde los anticuerpos de captura dirigidos contra el biomarcador deseado se acoplan covalentemente a las perlas. Las perlas acopladas reaccionan con la muestra que contiene el biomarcador de interés. Después de una serie de lavados para eliminar la proteína no unida, se agrega un anticuerpo de detección biotinilado para crear un complejo sándwich. El complejo de detección final se forma con la adición del conjugado de estreptavidina y ficoeritrina (SA-PE) que sirve como indicador fluorescente (BioRad) [53]. Se realizó una medición por par (suero-leche) de muestras.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron con el programa estadístico IBM SPSS Versión 25. Se evaluó la normalidad de la distribución de los datos recopilados mediante la prueba Kolmogorov-Smirnov, con un intervalo de

confianza al 95% y alfa 0.05. Los datos se representaron en tablas, gráficos de dispersión, boxplot y gráficos de correlación y, fueron reportados como Media \pm SD, Mediana (Q25-75), Frecuencia (absoluta o relativa) o Nivel de correlación según corresponda. Para comparar prevalencia con datos previamente reportados con los valores obtenidos en este estudio se aplicó la prueba de chi cuadrada.

Para comparar el volumen de la leche extraída, la concentración de hormonas (en leche y suero maternos), y la concentración de proteína y grasa (en leche materna) entre las tres etapas de lactancia, se aplicaron pruebas de análisis de varianza con una significancia de $p < 0.05$. Dado que los datos no poseían distribución normal, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis de una vía, siguiendo la prueba post-hoc de U-Mann-Whitney.

Las correlaciones entre la concentración de hormonas (en leche, suero y leche-suero maternos) y la etapa de lactancia se analizaron con regresión y correlación de Pearson para datos previamente normalizados. En el caso de las correlaciones entre la concentración de hormonas (en leche y suero maternos) y datos antropométricos, así como entre la concentración de hormonas (en leche y suero) y la composición nutrimental de la leche en cada etapa de lactancia se analizaron con regresión y correlación de Spearman debido a que los datos no poseían una distribución normal.

Es relevante mencionar que el número de muestra (n) de las diferentes hormonas analizadas (tanto en leche como en suero maternos) puede verse reducido en algunas etapas de lactancia, debido a que se excluyeron las muestras con concentraciones por debajo del límite de detección.

RESULTADOS

Se reclutaron a 64 mujeres y neonatos. De acuerdo al cálculo del IMC pregestacional, las participantes presentaron un rango de normo peso a sobrepeso (**Tabla 1**). Los neonatos presentaron una mediana de 39.1 semanas de gestación y se clasifican como “productos a término”, ya que nacieron entre las 37 semanas y menos de 42 semanas completas de gestación. Además presentaron una media de peso al nacimiento de 3.126 kg y una mediana de longitud al nacimiento de 50 cm. Con base en las gráficas de Battaglia/Lubchenco y Jurado García [9], se concluyó que el peso al nacer es el adecuado (**Tabla 1**).

Tabla 1. Características generales de las voluntarias y neonatos (n= 64)

Edad mujeres (años)	30 (22.5-34.8)
Intervalo de edad mujeres (años)	18 a 43
Talla mujeres (cm)	157.3 ± 6.6
IMC pre-gestacional (kg/m ²)	24.7 ± 3.6
Ganancia de peso durante el embarazo (kg)	11 (9-15)
Gestas (número)	2 (1-3)
Hijos (número)	2 (1-2)
Semanas de gestación neonatos	39.1 (38-40)
Peso al nacimiento neonatos (kg)	3.126 ± 0.387
Talla al nacimiento neonatos (kg)	50 (49-51)
Sexo neonatos	42.2% Femenino 57.8% Masculino
Vía de nacimiento neonatos	50.8% Vía vaginal 49.2% Cesárea

Datos reportados como Media ± SD, Mediana (Q 25-75) y Frecuencia (%), según corresponda.

Para evaluar si la ganancia de peso al final del embarazo corresponde a la recomendada se tomaron como referencia los valores reportados en la NOM-007-SSA-2016 [9] colocados en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Ganancia de peso deseables durante el embarazo (NOM-007-SSA-2016)

<i>Clasificación IMC (kg/m²)</i>	<i>Ganancia de peso adecuada (kg)</i>
Desnutrición (<18.5)	12.5-18.0
Normal (18.5-24.9)	11.35-15.89
Sobrepeso (25-29.9)	6.81-11.35
Obesidad (>30)	4.0-9.0

Datos reportados como Media \pm SD y Mediana (Q 25-75), según corresponda.

De acuerdo a la clasificación de IMC pregestacional (**Figura 1**) 34 mujeres (53%) iniciaron el embarazo con normo peso, 26 mujeres (39.8%) con sobrepeso y 4 mujeres (7.2%) con obesidad. Las participantes que se encuentran en un intervalo de ganancia de peso adecuado iniciando el embarazo con normo peso fueron 14 (21.8%) (**Figura 1A**), con sobrepeso fueron 11 mujeres (16.9%) (**Figura 1B**) y 1 mujer con obesidad (1.8%) (**Figura 1C**). Finalmente, el 40.6% del total de las participantes lograron una ganancia de peso adecuada con base en la recomendación por la NOM-007-SSA-2016 [9].

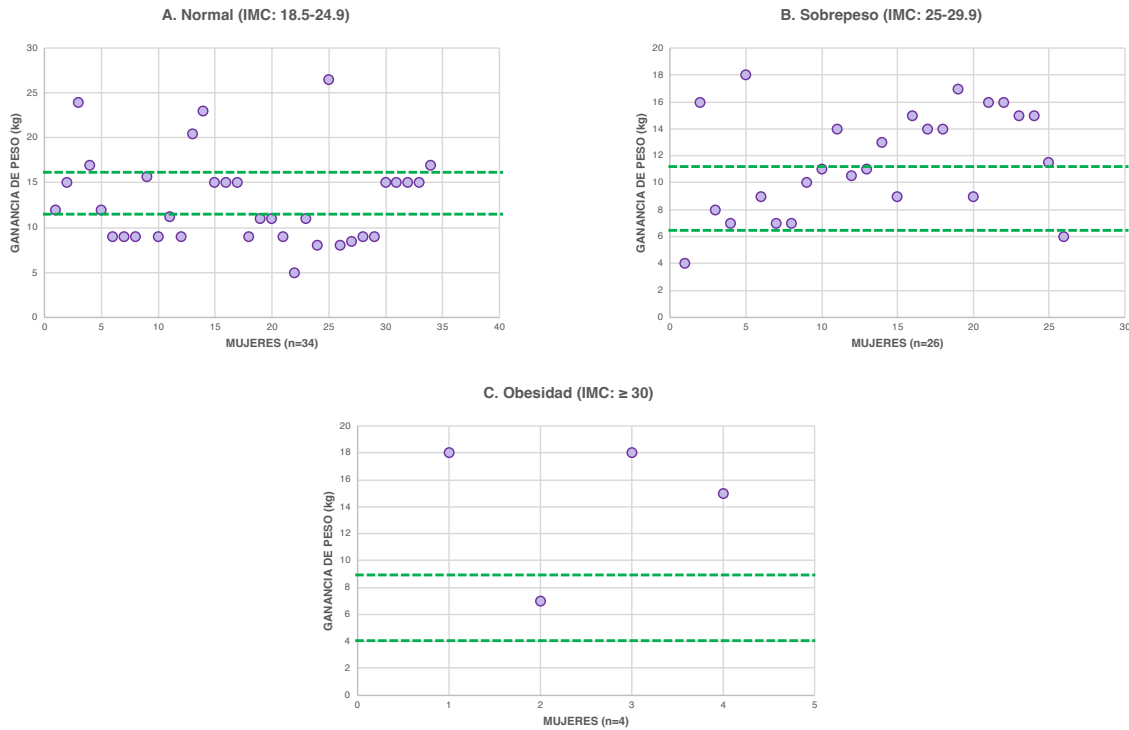


Figura 1. Ganancia de peso con base en IMC (kg/m²) pre-gestacional: IMC Normal (A), IMC Sobrepeso (B) e IMC Obesidad (C)
 Las líneas punteadas en color verde indica el rango de ganancia de peso adecuada para el IMC de acuerdo con la NOM-007-SSA-2016 [9]. Datos reportados como frecuencia: IMC Normal (n=34), IMC Sobrepeso (n=26) e IMC Obesidad (n=4).

Al evaluar en conjunto la composición corporal de las participantes al momento de la toma de la muestra se observa en la **Tabla 3** que se encuentran en un rango de normo peso a sobrepeso. Sin embargo, al considerar la masa grasa (%) y masa libre de grasa (%) se observa que presentaron alto porcentaje de masa grasa correspondiente a un índice de obesidad y además, tienen menor porcentaje de masa libre de grasa al recomendado (entre 30-40%).

Tabla 3. Composición corporal de las participantes al momento de la toma de muestra (n= 64).

IMC (kg/m ²)	25.4 ± 4.1
Peso (kg)	65.3 ± 10.4
Masa grasa (%)	35.7 ± 5.1
Masa libre de grasa (%)	27.3 ± 4.1

Datos reportados como Media ± SD.

Dado que la composición corporal de las mujeres lactantes va cambiando a lo largo de la lactancia, se observó que en los casos del peso, IMC y masa libre de grasa (%) se van reduciendo mientras que la masa grasa (%) va en aumento (**Tabla 4**).

Tabla 4. Composición corporal materna en las diferentes etapas de lactancia

Etapa de lactancia	Peso (kg)	IMC (kg/m ²)	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)
Calostro (n= 20)	70.7 ± 11.6	28.6 ± 5.1	33.4 ± 5.6	29.8 ± 3.1
Transición (n= 22)	71.5 ± 8.6	27.1 ± 2.7	37.9 ± 5.5	27.1 ± 3.1
Madura (n= 41)	61.9 ± 9.0	24.0 ± 3.1	36.1 ± 4.5	26.1 ± 2.0

Datos reportados como Media ± SD.

Se obtuvieron 83 pares de muestras de leche y sueros maternos que corresponden a 20 de calostro, 22 de leche de transición y 41 de leche madura.

Se cuantificó el volumen de leche extraído en cada etapa de lactancia. En la **Figura 2** se observa que el volumen aumenta conforme avanza la lactancia, siendo menor durante el calostro respecto a la leche de transición y madura.

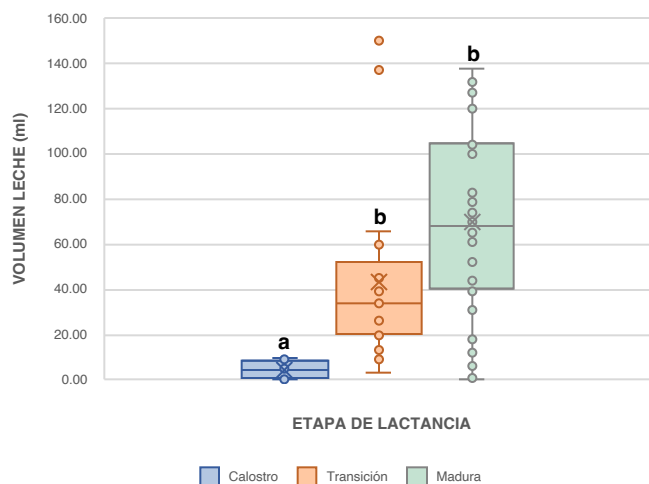


Figura 2. Volumen de leche materna extraída con técnica estandarizada (ml) en cada etapa de lactancia.

Datos reportados como Mediana (Q 25-75), en donde: Calostro 4.5 ml (0.76-8.8) n= 20; Transición 34 ml (20.5-52.5) n= 22; Madura 68 ml (40.3-104.8) n= 41. Con $p < 0.05$ para grupos que no comparten al menos una letra.

Se realizó el análisis de proteína (%) y grasa (%) en las distintas etapas de lactancia (**Figura 3**). En la **Figura 3A** se observa que conforme avanza la lactancia, la concentración de proteína disminuye y existe diferencia significativa en la etapa de calostro comparada con la leche de transición y madura. Por el contrario, en la **Figura 3B** se observa que la concentración de grasa aumenta y se observa diferencia significativa en la leche madura comparada con el calostro y la leche de transición.

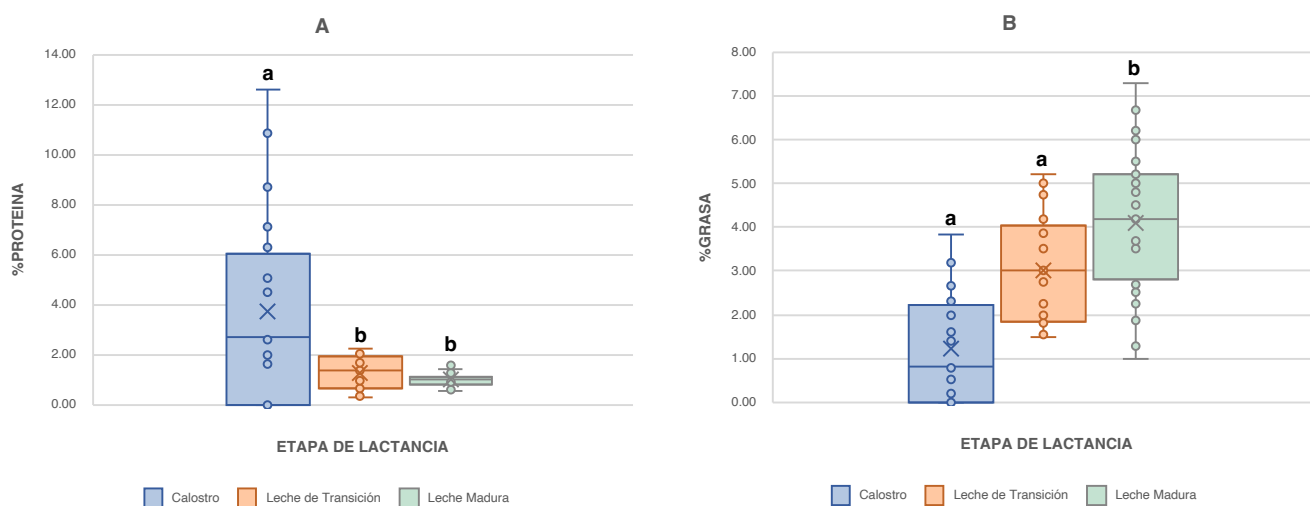


Figura 3. Concentración (%) de proteína y grasa de leche materna en cada etapa de lactancia.

Datos reportados como Mediana (Q 25-75), en donde: (A) Calostro 4.9% (2.4-7.5) ; Leche de Transición 1.4% (0.6-1.9); Leche Madura 1% (0.8-1.1). (B) Calostro 1.8% (0.7-2.7); Leche de Transición 3% (1.9-4); Leche Madura 4.2% (2.8-5.2). Calostro (n= 14), Transición (n= 21) y Madura (n= 39). Con $p < 0.05$ para grupos que no comparten al menos una letra.

El análisis de la cuantificación de las hormonas anorexigénicas (insulina y leptina) indica que conforme la lactancia avanza la concentración de insulina en leche es mayor en el calostro respecto a la leche de transición (**Figura 4A**) y no se observó diferencia entre las concentraciones de insulina en suero materno en las diferentes etapas de lactancia (**Figura 4B**). En el caso de la leptina, no hay diferencia estadística entre las concentraciones de leche y suero maternos (**Figura 4C y 4D**).

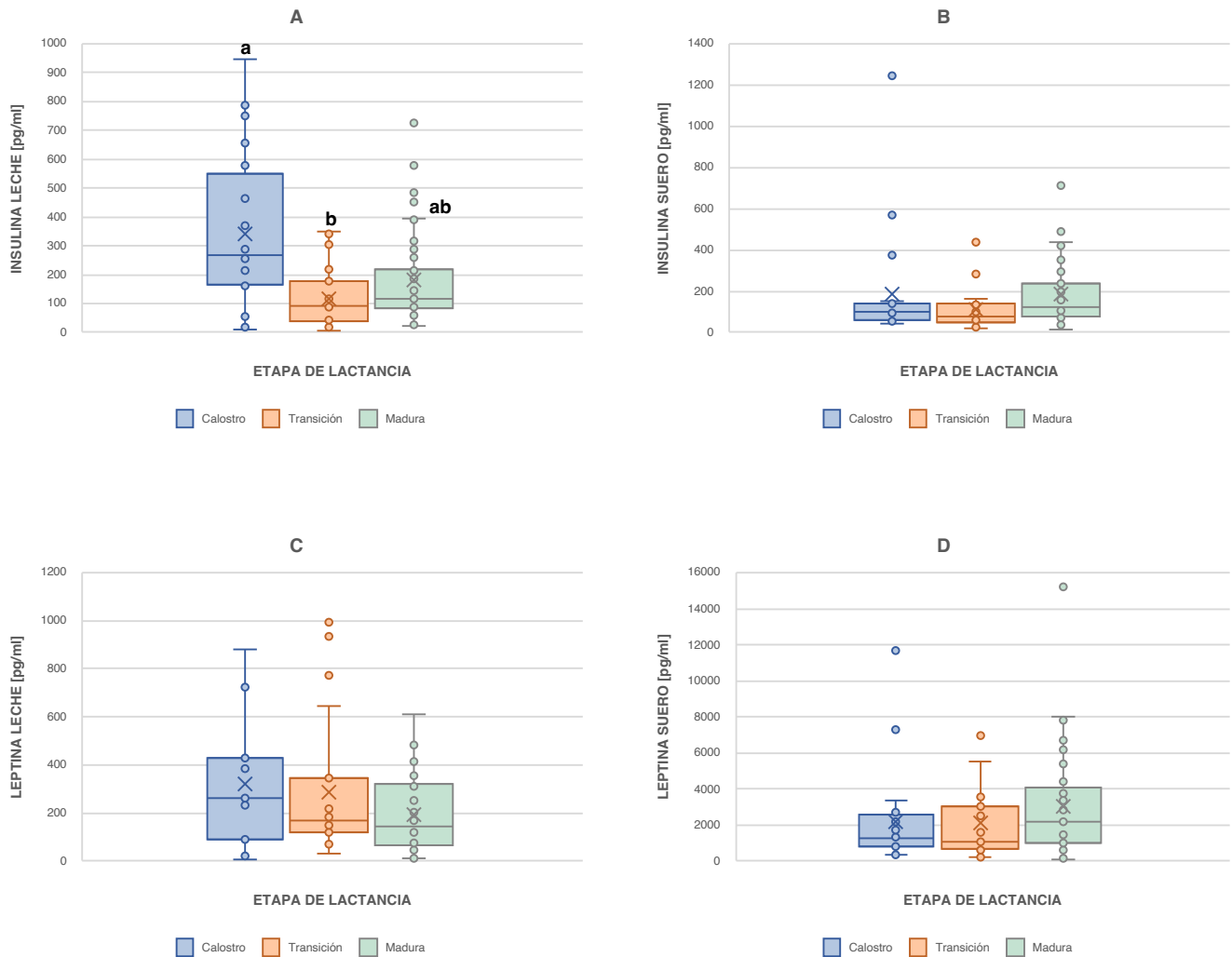


Figura 4. Concentración [pg/ml] de hormonas anorexigénicas en leche y suero maternos en cada etapa de lactancia. Insulina en leche (A) y suero (B); Leptina en leche (C) y suero (D). Datos reportados como Mediana (Q 25-75), en donde: (A) Calostro 266.9 [pg/ml] (166.8-549.4) n= 20; Transición 90.4 [pg/ml] (40.3-179.4) n= 22; Madura 115.2 [pg/ml] (74.7-236.9) n= 40. (B) Calostro 99.7 [pg/ml] (59.3-138.7) n= 20; Transición 79.1 [pg/ml] (46-179.4) n= 22; Madura 125.3 [pg/ml] (74.7-236.9) n= 40. (C) Calostro 263.4 [pg/ml] (92.3-431.6) n= 11; Transición 171.1 [pg/ml] (122-347) n= 22; Madura 145.3 [pg/ml] (66.7-321.8) n= 38. (D) Calostro 1251.8 [pg/ml] (845.4-2610.1) n= 20; Transición 1108.5 [pg/ml] (711.1-3055.9) n= 22; Madura 2210.2 [pg/ml] (1014.3-4075.5) n= 41. Con $p < 0.05$ para grupos que no comparten al menos una letra.

En el caso de las hormonas orexigénicas (**Figura 5**), la concentración de resistina tanto en leche como en suero materno es mayor en el calostro y disminuyeron significativamente conforme avanza la lactancia (**Figura 5A y 5B**). En las **Figuras 5C y 5D**, se observa que la concentración de grelina en leche y suero maternos son similares en todas las etapas.

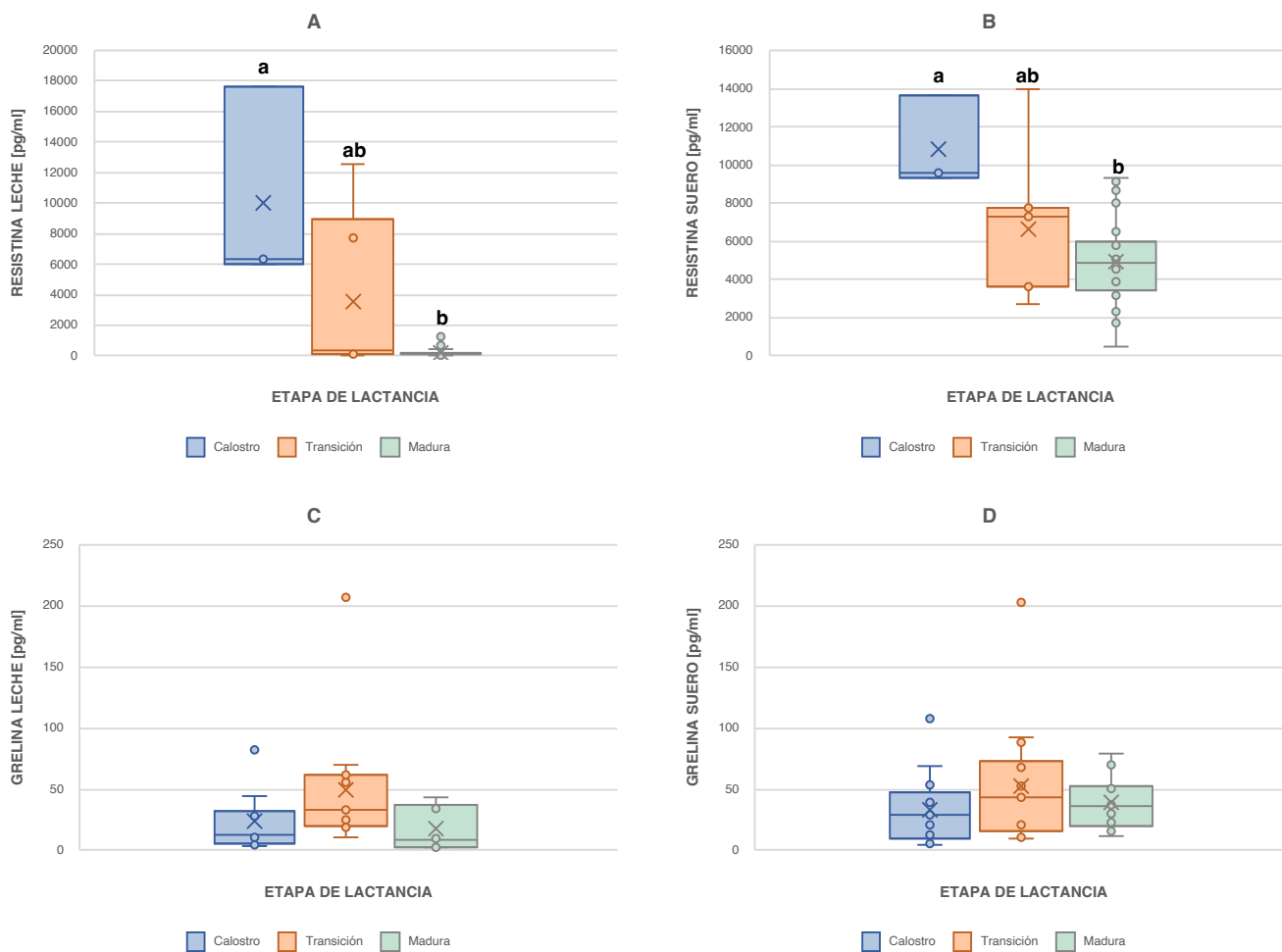


Figura 5. Concentración [pg/ml] de hormonas orexigénicas en leche y suero maternos en cada etapa de lactancia.

Resistina en leche (A) y suero (B); Grelina en leche (C) y suero (D). Datos reportados como Mediana (Q 25-75), en donde: (A) Calostro 6350.3 [pg/ml] (6040.3-) n= 3; Transición 354.4 [pg/ml] (99.4-8961) n= 6; Madura 115.9 [pg/ml] (82.9-240.6) n= 27. (B) Calostro 9565 [pg/ml] (9307.8-) n= 3; Transición 7317.8 [pg/ml] (3649.5-7784.2) n= 7; Madura 4852.2 [pg/ml] (3419-5976.3) n= 26. (C) Calostro 13.11 [pg/ml] (5.9-32) n= 11; Transición 33 [pg/ml] (20.1-61.8) n= 15; Madura 8.6 [pg/ml] (2.3-37.1) n= 8. (D) Calostro 29.1 [pg/ml] (9.5-47.3) n= 17; Transición 43.8 [pg/ml] (15.7-73) n= 15; Madura 35.8 [pg/ml] (19.7-52.9) n= 14. Las letras minúsculas representan diferencia significativa entre los grupos experimentales, con $p < 0.05$ n.s. no significativa.

Con la finalidad de conocer si las hormonas anorexigénicas y orexigénicas en la leche correlacionaban entre sí en cada etapa de lactancia, se realizó un análisis de correlación de Pearson (**Figura 6**). Se observaron correlaciones negativas entre las concentraciones de resistina y leptina en

leche a lo largo de la lactancia; también existe correlación negativa en el calostro entre insulina y resistina; en las etapas de transición y madura entre la grelina y resistina; y finalmente, en la etapa madura entre leptina e insulina. También se observaron correlaciones positivas en la etapa calostro entre grelina e insulina, y en la etapa madura entre grelina y leptina.

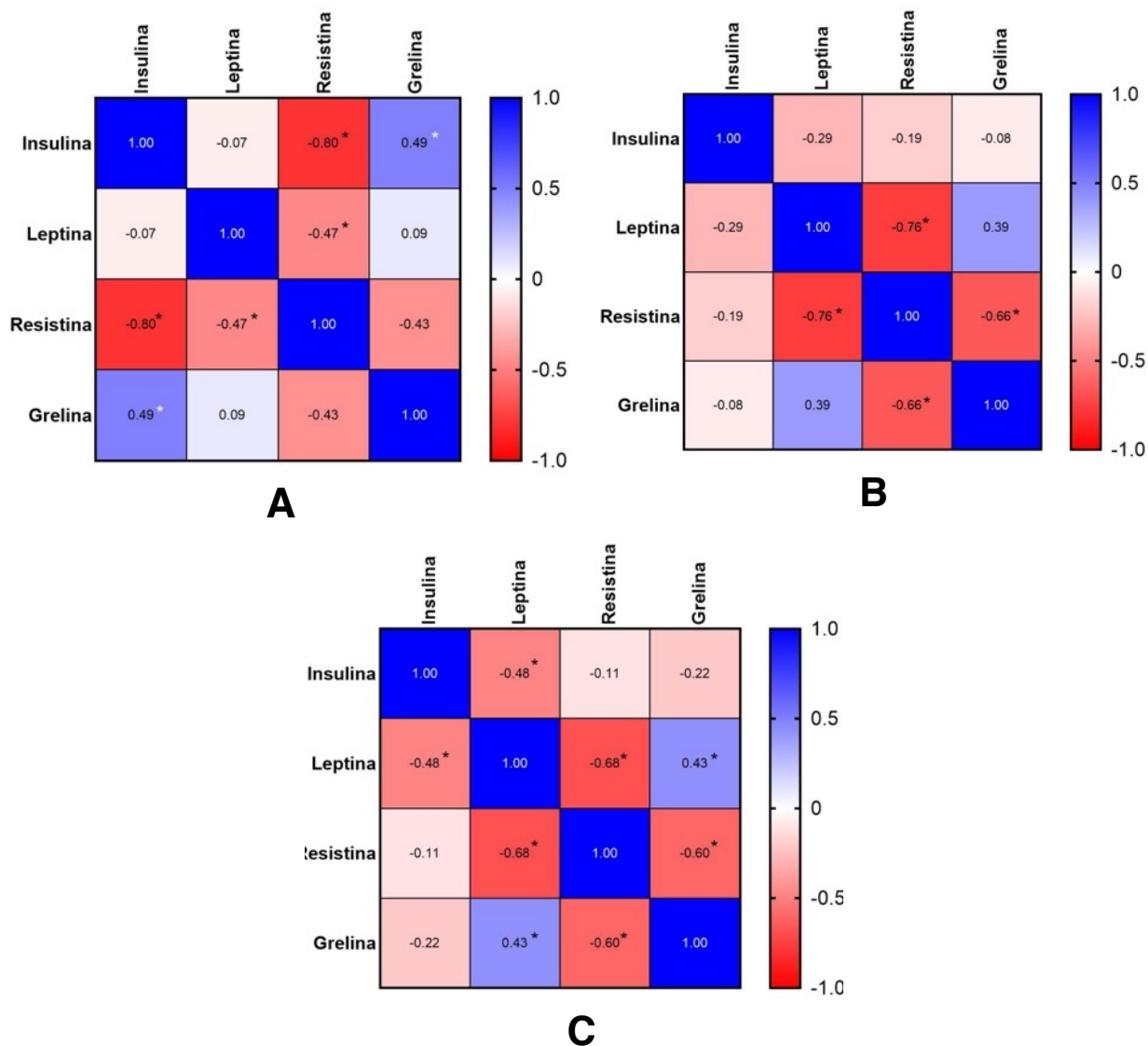


Figura 6. Correlación entre la concentración de hormonas en leche materna en cada etapa de lactancia.

Datos reportados como correlación de Pearson (r_s) en las etapas de Calostro (A), Transición (B) y Madura (C). El color del recuadro indica la correlación, el color azul indica una correlación positiva, y el color rojo una correlación negativa. En el interior de recuadro se muestra el nivel de correlación. *Indica diferencia significativa, con $p < 0.05$.

Para determinar si hay correlación entre la concentración de hormonas estudiadas en suero materno, se realizó un análisis de correlación de Pearson en cada etapa de lactancia (**Figura 7**). Se

encontró que en el calostro existe correlación positiva entre la concentración de insulina y leptina, entre insulina y resistina, así como entre la de leptina y resistina. En la etapa de transición únicamente se presentó correlación negativa entre las concentraciones de grelina y resistina. Finalmente, en la etapa madura existe correlación positiva entre las concentraciones de leptina e insulina y correlación negativa entre las concentraciones de grelina y resistina.

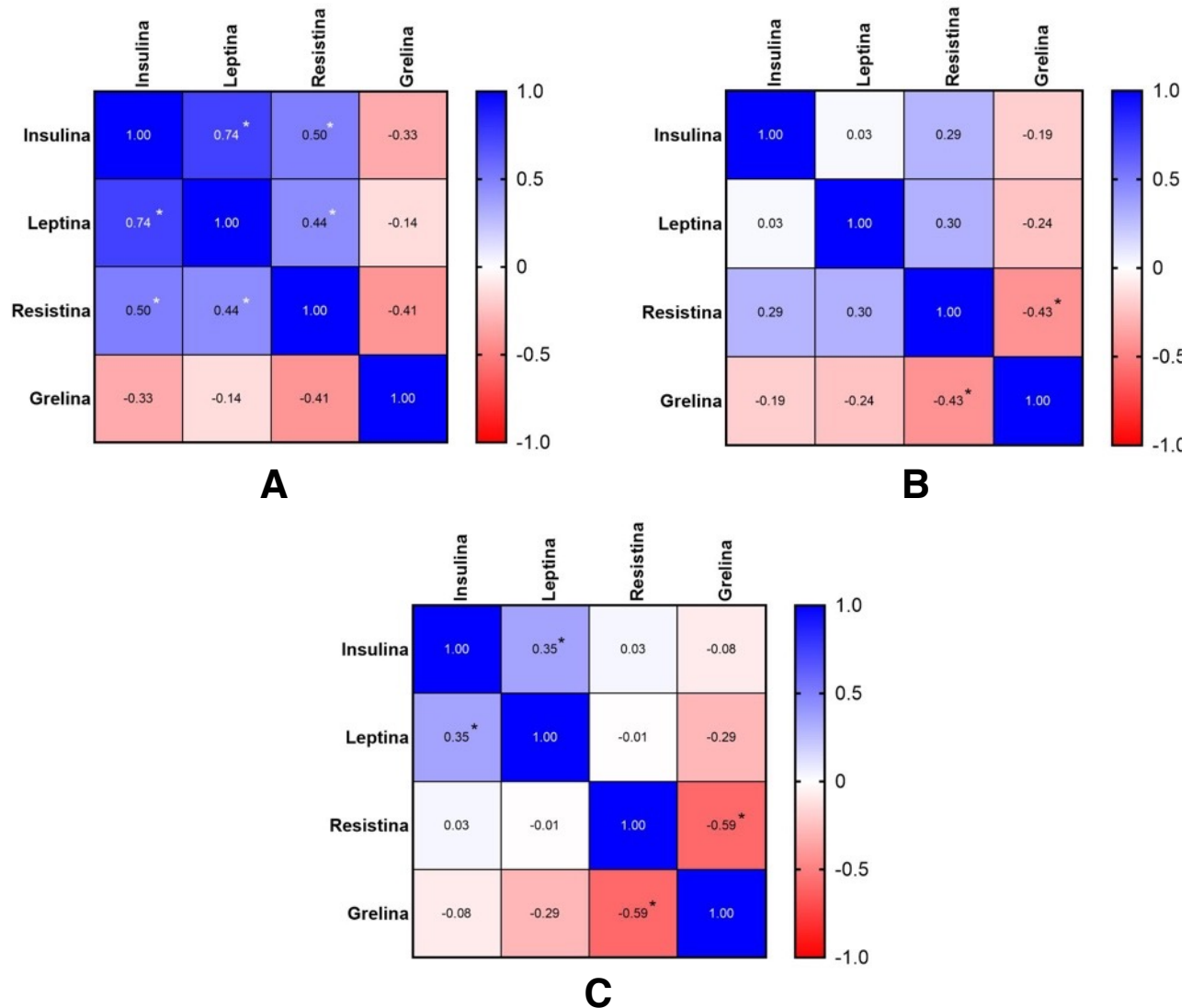


Figura 7. Correlación entre la concentración de hormonas en suero materno en cada etapa de lactancia.

Datos reportados como correlación de Pearson (r_s) en las etapas de Calostro (A), Transición (B) y Madura (C). El color del recuadro indica la correlación, el color azul indica una correlación positiva, y el color rojo una correlación negativa. En el interior de recuadro se muestra el nivel de correlación. *Indica diferencia significativa, con $p < 0.05$.

Para determinar si la concentración de las hormonas estudiadas en leche y suero maternos correlacionaban entre sí, se realizó un análisis de correlación de Pearson en cada etapa de lactancia. Los

resultados se presentan en la **Figura 8**. Hay correlación positiva para la insulina y resistina entre suero y leche materno en las tres etapas de la lactancia estudiadas. En las concentraciones de leptina y grelina, hay correlación positiva en la etapa de transición.

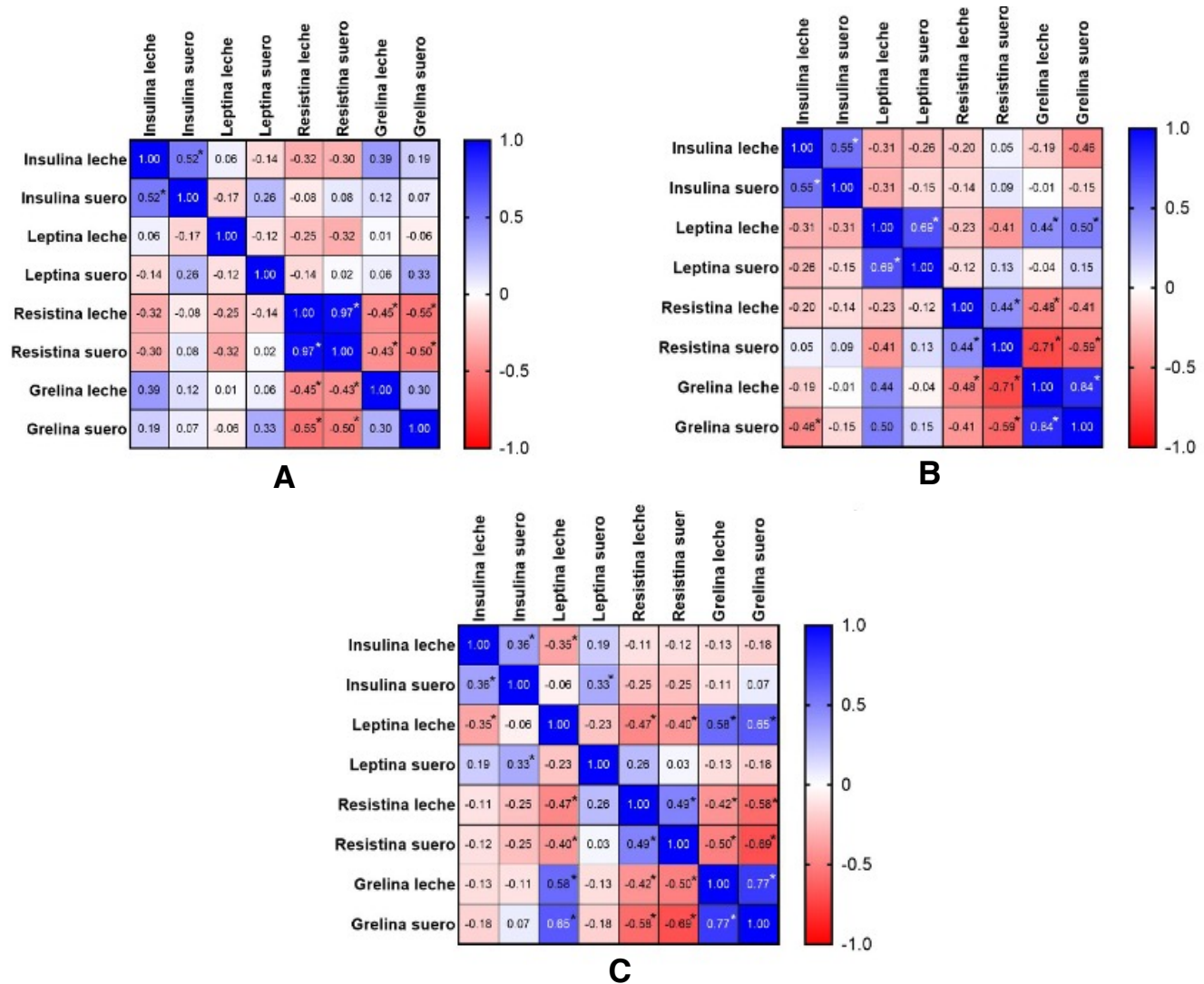


Figura 8. Correlación entre la concentración de hormonas en leche y suero maternos en cada etapa de lactancia.

Datos reportados como correlación de Pearson (r_s) en las etapas de Calostro (A), Transición (B) y Madura (C). El color del recuadro indica la correlación, el color azul indica una correlación positiva, y el color rojo una correlación negativa. En el interior de recuadro se muestra el nivel de correlación. *Indica diferencia significativa, con $p < 0.05$.

Asimismo, se realizó una análisis de correlación de Spearman en las etapas de calostro, transición, madura y considerando todas las etapas de lactancia para determinar si hay existía correlación entre la antropometría materna (IMC, masa grasa (%) y masa libre de grasa (%)) y la

concentración de hormonas en leche, así como entre la composición nutricional (proteína (%) y grasa (%)) y la concentración de hormonas en la leche.

Durante la etapa de calostro existe correlación positiva entre la grelina y el IMC, así como correlación negativa entre la concentración de resistina con el porcentaje de masa grasa (%) y la composición nutricional de la leche (Tabla 5).

Tabla 5. Correlación entre concentración de hormonas en leche y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en la etapa de calostro.

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r_s, p)	0.007, 0.982	-0.015, 0.958	-0.007, 0.982	0.015, 0.958	0.275, 0.342
Leptina (r_s, p)	-0.071, 0.867	-0.071, 0.867	0.048, 0.911	0.533, 0.139	-0.100, 0.798
Resistina (r_s, p)	-0.500, 0.667	-1*, 0.001	0.500, 0.667	-1*, 0.001	-1*, 0.001
Grelina (r_s, p)	0.829*, 0.042	0.429, 0.397	-0.371, 0.468	-0.357, 0.432	-0.321, 0.482

Datos reportados como correlación de Spearman (r_s), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

En la etapa de transición se observaron correlaciones negativas entre la resistina y el IMC y grasa (%) en leche, así como entre la concentración de grelina y el porcentaje de grasa de la leche (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 Correlación entre concentración de hormonas en leche y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en la etapa de transición.

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r_s, p)	0.117, 0.764	-0.400, 0.286	0.517, 0.154	-0.113, 0.626	-0.021, 0.929
Leptina (r_s, p)	-0.494, 0.177	-0.267, 0.488	0.150, 0.700	0.118, 0.612	-0.153, 0.509
Resistina (r_s, p)	-1*, 0.001	-0.800, 0.200	0.400, 0.600	-0.205, 0.741	-0.900*, 0.037
Grelina (r_s, p)	0.200, 0.800	-0.400, 0.600	0.0001, 1	0.275, 0.321	-0.685*, 0.005

Datos reportados como correlación de Spearman (r_s), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

En la etapa madura las correlaciones fueron positivas. El porcentaje de proteína presentó correlación con las concentraciones de resistina y grelina (Tabla 5.2).

Tabla 5.2 Correlación entre concentración de hormonas en leche y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en la etapa madura.

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r_s, p)	0.208, 0.199	0.250, 0.175	-0.156, 0.012	0.012, 0.944	-0.035, 0.834
Leptina (r_s, p)	0.116, 0.493	-0.008, 0.967	-0.214, 0.266	0.147, 0.391	-0.194, 0.258
Resistina (r_s, p)	-0.100, 0.621	-0.320, 0.182	0.371, 0.118	0.413*, 0.032	0.158, 0.431
Grelina (r_s, p)	0.342, 0.408	0.390, 0.339	-0.122, 0.774	0.811*, 0.027	-0.054, 0.908

Datos reportados como correlación de Spearman (r_s), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

Finalmente, considerando todas las etapas de lactancia se observa en la **Tabla 5.3** que el IMC materno presenta correlación positiva con la leptina. En el caso de la composición nutricional existe correlación negativa entre el porcentaje de grasa en leche y la grelina.

Tabla 5.3 Correlación entre concentración de hormonas en leche y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en todas las etapas de lactancia.

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r_s, p)	0.148, 0.247	-0.49, 0.726	0.070, 0.613	0.185, 0.115	-0.111, 0.345
Leptina (r_s, p)	0.355*, 0.008	0.115, 0.446	0.029, 0.850	0.239, 0.053	-0.184, 0.140
Resistina (r_s, p)	0.57, 0.776	0.236, 0.347	-0.052, 0.839	0.229, 0.187	-0.238, 0.168
Grelina (r_s, p)	0.261, 0.198	0.095, 0.644	0.136, 0.509	0.149, 0.442	-0.402*, 0.030

Datos reportados como correlación de Spearman (r_s), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

También se realizó una análisis de correlación de Spearman en las etapas de calostro, transición, madura y considerando todas las etapas de lactancia para determinar si hay correlación entre la antropometría materna (IMC, masa grasa (%) y masa magra (%)) y la concentración de hormonas en leche, así como entre la composición nutricional (proteína (%) y grasa (%)) y la concentración de hormonas en suero materno.

La **Tabla 6** muestra que durante la etapa de calostro solo existen correlaciones negativas. El IMC presentó correlación con la resistina y, la leptina se correlacionó con el porcentaje de proteína en leche.

Tabla 6. Correlación entre concentración de hormonas en suero y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en la etapa de calostro

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r, p)	-0.051, 0.864	0.248, 0.392	-0.297, 0.303	-0.371, 0.191	0.015, 0.958
Leptina (r, p)	-0.257, 0.375	-0.301, 0.296	0.279, 0.334	-0.591*, 0.026	0.248, 0.392
Resistina (r, p)	-1*, 0.001	-0.500, 0.667	-0.500, 0.667	-0.500, 0.667	-0.500, 0.667
Grelina (r, p)	-0.082, 0.811	-0.227, 0.502	0.236, 0.484	-0.045, 0.894	0.027, 0.937

Datos reportados como correlación de Spearman (r_s), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

En la **Tabla 6.1** se observa que durante la etapa de transición, a excepción de la insulina, todas las hormonas presentes en el suero materno mostraron correlación con alguno de los parámetros de la antropometría materna y composición nutricional de la leche. La concentración de leptina se correlacionó con el porcentaje de grasa magra, la resistina con el porcentaje de grasa en la leche y, la grelina con el IMC y el porcentaje de masa grasa.

Tabla 6.1 Correlación entre concentración de hormonas en suero y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en la etapa de transición.

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r, p)	-0.017, 0.966	-0.300, 0.433	0.450	0.291, 0.200	-0.135, 0.561
Leptina (r, p)	-0.444, 0.232	-0.200, 0.606	-0.117, 0.765	0.024, 0.918	0.215, 0.349
Resistina (r, p)	0.300, 0.624	0.500, 0.391	-0.700, 0.188	0.203, 0.700	-0.657, 0.156
Grelina (r, p)	0.0001, 1	-1*, 0.001	0.800, 0.200	0.222, 0.427	-0.154, 0.584

Datos reportados como correlación de Spearman (r_s), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

En la **Tabla 6.2** se observó que en la etapa madura únicamente existió correlación negativa entre la insulina y la concentración de grasa en la leche materna.

Tabla 6.2 Correlación entre concentración de hormonas en suero y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en la etapa madura.

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa libre de grasa (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r, p)	0.190, 0.246	0.132, 0.485	-0.135, 0.477	0.209, 0.208	-0.445*, 0.005
Leptina (r, p)	0.130, 0.425	0.147, 0.431	-0.203, 0.274	0.188, 0.252	-0.307, 0.057
Resistina (r, p)	-0.248, 0.222	-0.331, 0.180	-0.103, 0.683	-0.036, 0.860	-0.249, 0.221
Grelina (r, p)	-0.434, 0.138	-0.175, 0.587	0.172, 0.594	0.326, 0.301	-0.231, 0.470

Datos reportados como correlación de Spearman (r), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

Finalmente, considerando todas las etapas de lactancia se observaron correlaciones negativas (Tabla 6.3). La leptina se correlacionó con el porcentaje de masa grasa, la resistina con el porcentaje de grasa en leche y, la grelina tanto con el IMC como con el porcentaje de masa grasa.

Tabla 6.3 Correlación entre concentración de hormonas en suero y datos antropométricos y composición nutricional de la leche materna en todas las etapas de lactancia.

Hormona	Antropometría materna			Composición nutricional	
	IMC actual	Masa grasa (%)	Masa magra (%)	Proteína (%)	Grasa (%)
Insulina (r, p)	0.083, 0.522	-0.016, 0.908	-0.126, 0.369	0.093, 0.434	-0.162, 0.172
Leptina (r, p)	-0.068, 0.598	0.174, 0.208	-0.411*, 0.002	-0.031, 0.794	0.019, 0.874
Resistina (r, p)	-0.268, 0.186	-0.191, 0.462	0.140, 0.592	0.043, 0.807	-0.469*, 0.004
Grelina (r, p)	-0.457*, 0.005	-0.342*, 0.041	0.128, 0.457	-0.181, 0.276	0.031, 0.855

Datos reportados como correlación de Spearman (r), nivel de significancia (p). *Presenta diferencia significativa, con $p < 0.05$.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio tuvo como objetivo cuantificar la concentración de las hormonas involucradas con el metabolismo energético (leptina, insulina, resistina y grelina) presentes en leche y suero maternos, así como realizar el análisis de composición nutrimental de la leche materna en las tres etapas de lactancia: calostro, transición y madura. También se evaluó la correlación que existe entre la concentración de estas hormonas entre suero, leche y suero-leche, así como con los datos antropométricos maternos y la composición nutrimental de la leche.

CARACTERÍSTICAS GENERALES MATERNAS Y NEONATALES

Entre las características generales, las participantes cuentan con una mediana de edad de 30 años y respecto a las gestas y número de hijos presentaron mediana de 2. Los datos obtenidos indican similitud a lo reportado en el “Censo de población y vivienda 2020” realizado por el INEGI, el cual indica que la mediana de edad de las mujeres en nuestro país es de 29 años y las mujeres de 12 años y más promedian 2.1 hijos nacidos vivos [54]. De acuerdo con datos de los nacimientos registrados en 2021 por parte del INEGI [55] hay una mayor frecuencia del sexo masculino (50.7%) respecto al femenino (49.3%), se mantiene la misma proporción comparado con los resultados de este estudio en donde hay 57.8% masculino y 42.2% femenino ($\chi^2= 1.01$; $p= 0.31$).

En el presente estudio se incluyeron mujeres cuyos hijos nacieron tanto por vía vaginal (50.8%) como cesárea (49.2%), la ENSANUT 2021[5] reporta que la atención del parto de las mujeres del último hijo nacido vivo es de 51.2% vía vaginal y 48.2% por cesárea, proporción que conservan los datos obtenidos en este estudio ($\chi^2= 0.01$; $p= 0.92$). No se recolectó información sobre las causas por las cuales se eligió la vía de nacimiento, sin embargo, cabe mencionar que a nivel nacional se ha reportado desde 1990 hasta la actualidad un incremento en el índice de cesáreas practicadas (de 15.8% hasta llegar al 48.2%) como resultado de avances en la práctica obstétrica, complicaciones médicas derivadas de deficiente valoración del trabajo de parto y cambios socioculturales. Por ello tanto organismos nacionales como internacionales han trabajado para implementar estrategias y reducir ese índice con la finalidad de evitar complicaciones en el binomio madre-recién nacido [56] e iniciar con éxito la lactancia en la primera hora de vida, debido a que se ha demostrado que existe una asociación negativa entre la cesárea y la lactancia materna temprana [57].

Un ensayo clínico del 2017 realizado por Hernández Higareda y colaboradores concluyó que el IMC pregestacional se asocia con complicaciones obstétricas y perinatales [58], entre las que destacan preeclampsia, mayor riesgo de parto prematuro, macrosomía fetal, secuelas cardiometabólicas maternas y diabetes gestacional, siendo este último un factor de riesgo significativo para que el neonato desarrolle obesidad y diabetes tipo 2 a corto y/o largo plazo [59, 60]. Con base en esta información, el IMC pregestacional es un parámetro utilizado para determinar la ganancia de peso recomendada durante el embarazo [59], el cual en este estudio fue evaluado caso por caso y se obtuvo que el 53% de las participantes iniciaron su embarazo dentro de los parámetros considerados como normo peso y, el 47% restante presentó una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad. Comparando los datos reportados por la ENSANUT 2021 -la cual indica una condición de sobrepeso u obesidad en mujeres mexicanas en edad reproductiva del 75%- [5] y los resultados de este estudio, se obtuvo que este grupo presentó una prevalencia significativamente menor de esta condición ($\chi^2= 16.47$; $p= <0.001$).

Se ha enfatizado en la importancia de las condiciones antropométricas maternas previas y durante el embarazo, ya que diversos estudios han demostrado que los bebés nacidos de madres con obesidad tienen mayor probabilidad de desarrollar obesidad [61]. Uno de los tantos beneficios de la lactancia materna exclusiva es ayudar a que la mujer logre perder el peso acumulado durante el embarazo progresivamente durante las primeras seis semanas postparto [62]. Si bien, los resultados obtenidos en este estudio indican que las participantes a partir del primer mes postparto regresaron al peso pregestacional que reportaron, se debe resaltar la disminución de masa libre de grasa conforme avanza la lactancia. Entre las posibles razones por las cuales se puede presentar esta situación son la dieta materna limitada debido a restricciones por parte de los pediatras a ciertos alimentos para evitar que algunos de sus componentes pasen por medio de la leche materna y ocasionen malestares al lactante; otro factor que puede influir es el tipo de actividad física, ya que aun cuando la lactancia demande un alto gasto energético respecto al embarazo, se recomienda realizar ejercicios de fuerza para ganar masa muscular y reducir la grasa corporal; otro factor puede ser el nivel de hidratación de la mujer.

COMPOSICIÓN NUTRIMENTAL DE LA LECHE

La producción de leche materna está condicionada por las necesidades del neonato y la frecuencia en la estimulación de los senos (por succión del neonato o por medio de extracción), se ha reportado que durante las primeras 24 horas se producen alrededor de 50 ml y puede aumentar hasta 1200 ml por día [63, 64]. Aunque la cantidad de leche extraída de las participantes no representa el volumen total

producido durante un día, los resultados que se obtuvieron de vaciar por completo uno de los dos senos aumenta el volumen extraído conforme avanza la lactancia. Se observó diferencia entre el calostro y la leche de transición y madura, ya que como se mencionó anteriormente, es a partir de la etapa de transición donde se producen los cambios más significativos respecto a la composición y la producción para alcanzar una leche totalmente madura [34].

Los cambios observados en la composición de la leche de las mujeres del presente estudio corresponden a lo reportado en la literatura, la proteína presentó mayor concentración en los primeros días y disminuyó a lo largo del primer mes, caso contrario de la concentración de grasa que al inicio es menor respecto a la presente en la leche madura. En el caso del calostro, la concentración de proteína presenta aproximadamente 3 puntos porcentuales más (4.9%) respecto a lo reportado para esa etapa (2%) ($\chi^2= 1.26$; $p= 0.26$), mientras que la concentración de grasa de las muestras analizadas (1.8%) es menor respecto a lo reportado ($\chi^2= 0.26$; $p= 0.6$), sin embargo, los datos obtenidos siguen encontrándose dentro de los rangos normales.

PERFIL HORMONAL EN LECHE Y SUERO MATERNOS

Para explicar la programación metabólica asociada con el consumo de leche materna desde etapas tempranas de la vida, es importante diferenciar que el apetito está relacionado a experiencias sensoriales, mientras que el hambre y la saciedad a condiciones fisiológicas y metabólicas [37]. Este sistema modulado por hormonas orexigénicas y anorexigénicas a corto y largo plazo, les permite a los niños alimentados al seno materno tener una mayor oportunidad de autorregular la ingesta de alimentos en comparación con los niños alimentados con fórmula [62], cumpliendo un papel importante en la regulación del crecimiento y desarrollo neonatal y la infancia, e influenciando la programación en la regulación del equilibrio energético en la infancia y la edad adulta [3].

Los resultados del estudio mostraron la presencia de estas hormonas reguladoras del metabolismo a lo largo de la lactancia y se encontraron diferencias significativas en la etapa de calostro respecto a las demás etapas en las concentraciones de resistina sérica y de leche, así como de insulina en leche. A diferencia del adulto, el neonato utiliza la mayor parte de su gasto metabólico para mantener la termorregulación y la respiración a expensas de la glucosa, por lo que mantener la normoglucemia (>40 mg/dl) durante las primeras horas posparto dependerá del aporte exógeno de nutrientes y/o gluconeogénesis endógena, que inicia a partir de las 2 horas del nacimiento hasta alcanzar su máximo a las 12 horas de vida [43, 44], en consecuencia, la concentración de insulina sérica del neonato permanece

baja durante varios días para permitir la gluconeogénesis y la movilización del glucógeno por la activación de la glucógeno-fosforilasa mediada por la resistina [43, 65].

Se observó que en el calostro las concentraciones séricas maternas de insulina y resistina se correlacionaban entre sí positivamente, por lo que se sugiere que la principal fuente de ambas hormonas en la leche proviene principalmente del torrente sanguíneo materno [66]. La insulina sérica presentó menor concentración respecto a la de la leche, lo que indica que es transportada activamente del torrente sanguíneo hacia la leche a través de la glándula mamaria [67], con la finalidad de desempeñar funciones en la regulación de la glucosa y principalmente en la estimulación del crecimiento y desarrollo del tracto gastrointestinal en el lactante [3]. Gracias a que la resistina actúa como el principal modulador en la homeostasis metabólica neonatal, su concentración en leche fue mayor en el calostro respecto a las demás etapas; además, al ser antagonista de la insulina, la concentración en leche de ambas hormonas se correlacionaron negativamente.

En el caso de la leptina, esta hormona cumple con funciones a corto plazo enviando señales de saciedad al hipotálamo, pero principalmente a mediano y largo plazo ayudando a regular el balance energético con la finalidad de mantener el peso y la composición corporal constante por largos periodos de tiempo [38-40]. Aunque la concentración de leptina sérica no mostró diferencia estadística entre cada etapa, se observó que la concentración en suero es más alta en la etapa madura. Estudios reportan mayor concentración de leptina en leche durante la etapa de calostro y su disminución a lo largo de la lactancia [3, 50], sin embargo, los resultados de este estudio mostraron que las concentraciones en las tres etapas son similares y no se observó diferencia estadística entre ellas. Se observó similitud en las concentraciones séricas y de leche en todas las etapas, pero la tendencia en la concentración en suero fue en aumento conforme avanza la lactancia y en el caso de la leche disminuyó. Cabe mencionar que durante la etapa de transición existió correlación positiva significativa entre suero y leche. Con base en estos resultados, se sugiere que la leptina presente en la leche proviene de la circulación materna transportada por difusión o transporte mediado por receptores y también es sintetizada por las células epiteliales mamarias [7, 46, 50].

Para este trabajo de investigación no se analizaron muestras séricas de los neonatos, por lo que no se pudo determinar si existe correlación con la concentración de leptina en leche y determinar la razón por la cual no se encontraron diferencias entre las etapas de lactancia. Algunos estudios en ratas sugieren que la absorción de leptina es mediante un mecanismo de retroalimentación positiva que actúa sobre los receptores gástricos. Debido a que la producción de leptina gástrica durante el periodo neonatal

es deficiente, es necesaria una fuente exógena para su absorción en el epitelio y ser transportada al torrente sanguíneo para inhibir la ingesta de alimentos y regular la producción endógena de leptina [16]. En el caso de estudios clínicos (aunque aún se desconocen los mecanismos de absorción), se ha observado una mayor concentración de leptina sérica en lactantes alimentados con leche materna respecto a los alimentados con fórmula láctea [31]. Además, debido a los receptores de leptina que se han identificado en las células epiteliales del intestino de los lactantes, esta hormona podría activar las vías de señalización involucradas en el desarrollo del sistema gastrointestinal [46].

La grelina es secretada principalmente por la mucosa gástrica y envía señales al hipotálamo mediante un bucle de retroalimentación positiva, con la finalidad de estimular la ingestión de alimentos y regular la homeostasis energética [3, 38, 50] ayudando al neonato a mantener la composición corporal constante por periodos largos de tiempo [37, 38, 40, 41]. Aunque en este estudio se observó que las concentraciones de grelina sérica son ligeramente más altas que las de leche, no fue contundente la diferencia en las diferentes etapas de lactancia. Sin embargo, se sugiere que así como la insulina, la concentración de grelina en leche proviene principalmente del torrente sanguíneo materno [50]. También se observó que hubo similitud en las concentraciones séricas y de leche en todas las etapas, pero en ambos casos la concentración más alta fue en la etapa de transición, probablemente debido a la asociación de la grelina con la regulación y aumento del peso corporal durante el primer brote de crecimiento que experimenta el lactante, que es entre las dos y tres semanas de vida [8]. También se encontró que existe correlación positiva en la etapa madura entre las concentraciones de grelina y leptina en leche. Esto fue contrario a lo esperado, ya que la leptina ejerce una doble restricción tónica sobre la secreción gástrica de grelina a nivel periférico y sobre la activación por la grelina de las neuronas orexigénicas a nivel central [3].

CORRELACIÓN ENTRE HORMONAS (SÉRICAS Y DE LECHE) Y DATOS ANTROPOMÉTRICOS MATERNOS

Como se mencionó anteriormente el IMC materno es un parámetro que puede predecir posibles complicaciones obstétricas y perinatales, pero también puede utilizarse para evaluar la correlación entre la composición corporal de la madre y de la leche materna, por ello, en los últimos años se han realizado algunos estudios que han investigado la correlación entre la concentración de las hormonas reguladoras del metabolismo en leche y el IMC materno. En este estudio se encontró correlación entre estas variables durante la etapa de calostro con la grelina, y con la leptina tomando en cuenta todas las etapas de lactancia.

Un estudio realizado en 2016 por Andreas et.al., reportó que no existe correlación de las concentraciones de grelina y resistina en leche y el IMC materno [57], sin embargo, en este estudio se encontró lo contrario; respecto a la concentración sérica de grelina se observó correlación negativa significativa entre estas variables. Estas correlaciones sugieren que el IMC materno influye en la presencia de esta hormona en particular y pueden contribuir a reducir el riesgo de obesidad de los lactantes en etapas posteriores de la vida [50]. En el caso de la leptina se observó correlación positiva significativa considerando todas las etapas de lactancia, este resultado es consistente con estudios previos que han demostrado que la concentración de la leche humana varía entre las mujeres y está influenciada por varios factores, incluido el IMC materno [61], debido a que la expresión de esta hormona está mediada proporcionalmente por la cantidad de grasa corporal almacenada en los adipocitos maternos [16].

Dado que el IMC es variable después del parto y no es un indicador preciso para evaluar la composición corporal, es necesario tomar en cuenta otros parámetros antropométricos como el porcentaje de masa grasa y libre de grasa, y así evaluar la correlación con las hormonas anorexigénicas y orexigénicas en leche y suero maternos. En este estudio únicamente se observó que la concentración de grelina sérica presentó correlación negativa significativa durante la etapa de transición y evaluando los resultados obtenidos de todas las etapas de lactancia con el porcentaje de masa grasa, esto puede ser consecuencia de la sensibilidad que presenta esta hormona a la dieta y los cambios inducidos por el ejercicio [37, 38, 41]. Evaluando los resultados obtenidos de todas las etapas de lactancia, se observó que existe correlación negativa entre la leptina y la masa libre de grasa, debido a que la expresión de esta hormona está mediada proporcionalmente por la cantidad de grasa corporal almacenada en los adipocitos maternos [16].

CORRELACIÓN ENTRE HORMONAS (SÉRICAS Y DE LECHE) Y COMPOSICIÓN NUTRIMENTAL DE LA LECHE

La composición de macronutrientes en la leche materna podría verse influenciada por las hormonas reguladoras del metabolismo, ya que se ha reportado que los lactantes alimentados exclusivamente con leche materna recibían leche con mayor concentración de grasa y se saciaban antes [68]; sin embargo, son pocos los estudios que han correlacionado ambas variables. En 2021 de Fluiter y colaboradores analizaron la correlación entre las concentraciones séricas de las hormonas reguladoras del metabolismo (incluidas grelina y leptina) y los macronutrientes de la leche materna durante los primeros seis meses de vida, y concluyeron que no existe correlación [68].

Debido a que en este estudio no se incluyeron muestras biológicas de los neonatos, únicamente se realizaron correlaciones entre los componentes nurimentales (porcentaje de proteína y grasa) y las muestras séricas y de leche. Se encontraron correlaciones negativas entre este componente y las concentraciones de grelina y resistina en leche durante la etapa de transición, y de la grelina considerando a todas las etapas de lactancia. En el caso del suero, hubo correlaciones negativas entre las concentraciones de leptina con proteína (%) durante el calostro, de insulina con la grasa (%) y de resistina con la grasa en todas las etapas. Se debe considerar que la grasa es el componente más variable debido a diversos factores tanto maternos como de lactancia, incluidos la dieta materna, hora del día, fracción de leche y periodo de lactancia [11, 26].

Es importante tomar en cuenta que este estudio es de naturaleza correlacional y no establece causalidad. Por lo que se necesita más investigación para comprender mejor la relación entre la concentración de las hormonas reguladoras del metabolismo y la asociación entre las características antropométricas y la composición de la leche materna, con el fin de poder establecer los mecanismos que se llevan a cabo para el crecimiento y desarrollo infantil.

LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO

Entre las principales fortalezas que presenta este trabajo de investigación resalta la recolección de muestras de calostro dentro de las primeras horas de lactancia, a diferencia de estudios previos que analizan muestras de leche materna a partir de la primera semana. Además, se logró un alto índice de convocatoria por medio de las redes sociales de mujeres en distintos momentos de lactancia, esto significa que se cuenta con más de una cohorte de estudio para siguientes trabajos. También se consiguió estandarizar el método de extracción de leche en distintas etapas de lactancia, y elegir al inmunoensayo con perlas magnéticas como el método más adecuado para la cuantificación de estas hormonas tanto en leche como suero maternos.

En cambio, entre las principales limitaciones que existieron en este trabajo fue que no se logró llevar a cabo el seguimiento de las tomas de muestra en las tres etapas de lactancia (calostro, transición y madura) del total de mujeres reclutadas, debido a que no tenían la disponibilidad y/o los recursos para regresar al hospital materno. Por lo que se sugiere que para llevar a cabo un estudio longitudinal (como

se tenía planeado realizar este trabajo), otro criterio de inclusión sea que las mujeres puedan asistir al menos a tres tomas de muestra.

Otra de las limitantes fue el cuestionario aplicado, en futuros estudios se sugiere incluir preguntas que proporcionarán más información acerca de datos sociodemográficos como escolaridad, tipo de vivienda, ingresos económicos, ocupación, entre otros. Tampoco se incluyeron preguntas relacionadas a la actividad física y la evaluación dietética de las participantes antes y durante el embarazo, así como al momento de la toma de la muestra, con esta información se podría describir de forma más amplia los hábitos maternos y evaluar la correlación con componentes de la leche.

En el caso de los neonatos, no se incluyeron muestras biológicas ni toma de medidas antropométricas (peso, longitud, medición de circunferencias y pliegues cutáneos) al momento de cada toma de muestra. Tal situación condiciona a estudiar únicamente una parte del proceso de alimentación de los lactantes, sin evaluar la absorción y dilucidar el mecanismo de absorción de los componentes nutrimentales y bioactivos presentes en la leche materna.

Finalmente, se sugiere hacer uso de herramientas tecnológicas para la recolección de datos que hagan más dinámica la aplicación de cuestionario, con la finalidad de reducir el tiempo de cada toma de muestra y mantener el interés de las mujeres para continuar participando en el protocolo.

RESUMEN DE RESULTADOS

Con los resultados presentados en este trabajo, se destacan los siguientes puntos:

- Las participantes son adultas jóvenes con mediana edad de 30 años y 2 hijos, este grupo puede ser considerado representativo en nuestro país.
- Más del 50% de las participantes tenían un IMC pregestacional de normo-peso. Con base en el IMC pregestacional, se observó que el 40.6% de las mujeres lograron una ganancia de peso adecuada a lo largo del embarazo. Conforme avanza la lactancia se observó que el IMC y el porcentaje de masa libre de grasa maternos disminuyen, pero la masa grasa aumenta.
- Los cambios respecto al volumen extraído y la composición nutrimental de la leche materna en cada etapa de lactancia, corresponde a lo reportado previamente en la literatura. El volumen extraído en el calostro es menor respecto a la leche de transición y madura. Respecto a la composición nutrimental, la concentración de proteína es mayor en el calostro y menor en

transición y madura; por el contrario, la concentración de grasa es menor en calostro y transición, y mayor en madura.

- En las hormonas anorexigénicas se observó que conforme avanza la lactancia la concentración de insulina en leche es mayor en el calostro respecto a la leche de transición y no hay diferencia entre las concentraciones de insulina en suero materno en las diferentes etapas de lactancia. En el caso de la leptina, no hay diferencia entre las concentraciones de leche y suero maternos.
- En el caso de las hormonas orexigénicas, la concentración de resistina tanto en leche como en suero materno es mayor en el calostro y menor conforme avanza la lactancia. La concentración de grelina en leche y suero maternos son similares en todas las etapas.
- Existe correlación positiva para las concentraciones de insulina y resistina entre suero y leche materno en las tres etapas de la lactancia. En las concentraciones de leptina y grelina, hay correlación positiva en la etapa de transición.
- La correlación que existe entre la antropometría materna con la presencia de estas hormonas, con excepción de la insulina, es estadísticamente significativa principalmente con respecto al IMC y el porcentaje de masa grasa.

CONCLUSIONES

El perfil que se obtuvo de estas hormonas indicó que la etapa de calostro es diferente en el perfil hormonal (leche y suero) y composición nutricional (leche) respecto a los demás periodos de lactancia. Además, durante la etapa de transición suceden los cambios más significativos respecto a la concentración de hormonas reguladoras del apetito y su correlación con características antropométricas maternas. Los resultados obtenidos en esta investigación reafirman la presencia y diferencia que existe entre cada etapa de lactancia respecto a los componentes nutricionales y hormonas anorexigénicas y orexigénicas presentes en leche y suero maternos.

REFERENCIAS

1. Rodriguez-Gonzalez, G.L., et al., *Importance of the lactation period in developmental programming in rodents*. Nutr Rev, 2020. **78**(Suppl 2): p. 32-47.
2. Rodriguez-Gonzalez, G.L., D.C. Castro-Rodriguez, and E. Zambrano, *Pregnancy and Lactation: A Window of Opportunity to Improve Individual Health*. Methods Mol Biol, 2018. **1735**: p. 115-144.
3. Savino, F., et al., *Can hormones contained in mothers' milk account for the beneficial effect of breast-feeding on obesity in children?* Clin Endocrinol (Oxf), 2009. **71**(6): p. 757-65.
4. Patel, M.S. and M. Srinivasan, *Metabolic programming in the immediate postnatal life*. Ann Nutr Metab, 2011. **58 Suppl 2**(Suppl 2): p. 18-28.
5. Instituto Nacional de Salud Pública, I. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2021 sobre Covid-2019*. 2022 [cited 2023 Marzo 17]; Available from: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2021/doctos/informes/220804_Ensa21_digital_4ago.pdf.
6. Galindo Gomez, A., et al., *[Adiponectin levels in breast milk of overweight/obese and normal weight mothers in the metropolitan area of Monterrey, Mexico]*. Bol Med Hosp Infant Mex, 2015. **72**(4): p. 242-248.
7. Gila-Diaz, A., et al., *A Review of Bioactive Factors in Human Breastmilk: A Focus on Prematurity*. Nutrients, 2019. **11**(6).
8. Catli, G., N. Olgac Dundar, and B.N. Dundar, *Adipokines in breast milk: an update*. J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2014. **6**(4): p. 192-201.
9. *NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-007-SSA2-2016, PARA LA ATENCION DE LA MUJER DURANTE EL EMBARAZO, PARTO Y PUERPERIO, Y DE LA PERSONA RECIEN NACIDA*. Diario Oficial de la Federación, 2016.
10. UNICEF. *Lactancia Materna*. [cited 2022; Available from: <https://www.unicef.org/mexico/lactancia-materna>].
11. García-López, R., *Composición e inmunología de la leche humana*. Acta Pediátrica de México, 2011. **32**(4): p. 223-230.
12. Andreas, N.J., B. Kampmann, and K. Mehring Le-Doare, *Human breast milk: A review on its composition and bioactivity*. Early Hum Dev, 2015. **91**(11): p. 629-35.
13. Mosca, F. and M.L. Gianni, *Human milk: composition and health benefits*. Pediatr Med Chir, 2017. **39**(2): p. 155.
14. Demmelair, H. and B. Koletzko, *Lipids in human milk*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2018. **32**(1): p. 57-68.
15. Koletzko, B., *Interindividual variation of human milk metabolome*. Am J Clin Nutr, 2019. **110**(1): p. 1-3.
16. Sinkiewicz-Darol, E., et al., *Leptin in Human Milk-One of the Key Regulators of Nutritional Programming*. Molecules, 2022. **27**(11).
17. Sabillón, F.A., B., *Composición de la Leche Materna*. Honduras Pediátrica, 1997. **XVII**(4).
18. Ceriani Cernadas, J.M., *Colostrum and breast milk in the neonatal period: The benefits keep adding up*. Arch Argent Pediatr, 2018. **116**(4): p. 234-235.
19. Pillay, J. and T.J. Davis, *Physiology, Lactation*, in *StatPearls*. 2023, StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
20. Aguilar Palafox, M.I. and M.Á. Fernández Ortega, *Lactancia Materna exclusiva*. Revista de la Facultad de Medicina. UNAM, 2007.

21. Preusting, I., et al., *Obesity as a Predictor of Delayed Lactogenesis II*. J Hum Lact, 2017. **33**(4): p. 684-691.
22. Erick, M., *Breast milk is conditionally perfect*. Med Hypotheses, 2018. **111**: p. 82-89.
23. Menchetti, L., et al., *Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases*. Front Biosci (Schol Ed), 2016. **8**(2): p. 331-51.
24. Klaey-Tassone, M., et al., *Human neonates prefer colostrum to mature milk: Evidence for an olfactory bias toward the "initial milk"?* Am J Hum Biol, 2021. **33**(5): p. e23521.
25. Sánchez, C., et al., *Breast Milk: A Source of Functional Compounds with Potential Application in Nutrition and Therapy*. Nutrients, 2021. **13**(3).
26. Koletzko, B., *Human Milk Lipids*. Ann Nutr Metab, 2016. **69 Suppl 2**: p. 28-40.
27. Saarela, T., J. Kokkonen, and M. Koivisto, *Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation*. Acta Paediatr, 2005. **94**(9): p. 1176-81.
28. Grunewald, M., et al., *Variation and Interdependencies of Human Milk Macronutrients, Fatty Acids, Adiponectin, Insulin, and IGF-II in the European PreventCD Cohort*. Nutrients, 2019. **11**(9).
29. Ballard, O. and A.L. Morrow, *Human milk composition: nutrients and bioactive factors*. Pediatr Clin North Am, 2013. **60**(1): p. 49-74.
30. Soyulmaz, B., et al., *The Mean of Milk: A Review of Human Milk Oligosaccharide Concentrations throughout Lactation*. Nutrients, 2021. **13**(8).
31. Badillo-Suarez, P.A., M. Rodriguez-Cruz, and X. Nieves-Morales, *Impact of Metabolic Hormones Secreted in Human Breast Milk on Nutritional Programming in Childhood Obesity*. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2017. **22**(3): p. 171-191.
32. Lokossou, G.A.G., et al., *Human Breast Milk: From Food to Active Immune Response With Disease Protection in Infants and Mothers*. Front Immunol, 2022. **13**: p. 849012.
33. Picciano, M.F., *Nutrient composition of human milk*. Pediatr Clin North Am, 2001. **48**(1): p. 53-67.
34. Salazar, S.C., Mervin; Delgado, Xiomara; Eudis Rubio, Thamara Pacheco, *Lactancia Materna*. Arch Venez Puer Ped, 2009. **72**(4): p. 163-166.
35. Garwolinska, D., et al., *Chemistry of Human Breast Milk-A Comprehensive Review of the Composition and Role of Milk Metabolites in Child Development*. J Agric Food Chem, 2018. **66**(45): p. 11881-11896.
36. Kunz, C.L., B., *Re-evaluation of the whey protein/casein ratio of human milk*. Acta Paediatr, 1992: p. 107-112.
37. Carranza Quispe, L.E., *Fisiología del apetito y el hambre*. Enfermería Investiga: Investigación, Vinculación, Docencia y Gestión, 2016. **1**: p. 117-124.
38. González Hita, M.E., K.G. Ambrosio Macias, and S. Sánchez Enríquez, *Regulación neuroendócrina del hambre, la saciedad y mantenimiento del balance energético*. Investigación en Salud, 2006. **VIII**(3): p. 191-200.
39. Calzada-León, R., N. Altamirano-Bustamante, and M.d.l.L. Ruiz-Reyes, *Reguladores neuroendocrinos y gastrointestinales del apetito y la saciedad*. Bol Med Hosp Infant Mex, 2008. **65**: p. 468-487.
40. Ochoa, C. and G. Muñoz Muñoz, *Hambre, apetito y saciedad*. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr, 2014. **24**(2): p. 268-279.
41. Forero Bogotá, M.A. and M. Gómez Leguizamón, *Determinantes fisiológicos y ambientales de la regulación del control de la ingesta de alimentos*. Rev. Nutr. Clin. Metab, 2021. **4**(1): p. 85-93.

42. Cerda Miguel, P.I.G., Pilar, *Fisiología Perinatal*. 2008, Santiago, Chile.
43. Pertierra Cortada, Á. and I. Iglesias Platas, *Hipoglucemia neonatal*. *Anales de Pediatría Continuada*, 2013. **11**(3): p. 142-151.
44. Cannizzaro, C.M. and M.A. Paladino, *Fisiología y fisiopatología de la adaptación neonatal*. *Anestesia Analgesia Reanimación*, 2011. **24**: p. 59-74.
45. Becerra-Bulla, F.B.-B., Laura; Rodríguez-Bonilla, Juliana, *Leptina y lactancia materna: beneficios fisiológicos*. *Rev. Fac. Med.*, 2015: p. 119-26.
46. Schuster, S., et al., *Leptin in maternal serum and breast milk: association with infants' body weight gain in a longitudinal study over 6 months of lactation*. *Pediatr Res*, 2011. **70**(6): p. 633-7.
47. Palou, A. and C. Pico, *Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life*. *Appetite*, 2009. **52**(1): p. 249-52.
48. Olivares Reyes, J.A.A.P., Araceli, *Bases moleculares de las acciones de la insulina*. *Revista de Educación Bioquímica*, 2008: p. 9-18.
49. Fields, D.A., C.R. Schneider, and G. Pavela, *A narrative review of the associations between six bioactive components in breast milk and infant adiposity*. *Obesity (Silver Spring)*, 2016. **24**(6): p. 1213-21.
50. Suwaydi, M.A., et al., *Human Milk Metabolic Hormones: Analytical Methods and Current Understanding*. *Int J Mol Sci*, 2021. **22**(16).
51. Kratzsch, J., Y.J. Bae, and W. Kiess, *Adipokines in human breast milk*. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2018. **32**(1): p. 27-38.
52. Rojas Torres, K.I., *Análisis y comparación nutricional de la leche materna humana en etapas tempranas de lactancia y posterior a los 6 meses: beneficios y panorama*. 2018, Universidad Nacional Autónoma de México. p. 78.
53. Bio-Rad. *Bio-Plex Pro™ Diabetes Assay Panels. Instructions Manual*. Available from: <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10010747.pdf>.
54. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, I. *Resultado Censo 2020*. 2021 [cited 2023 Marzo 21]; Available from: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/ResultCenso2020_Nal.pdf.
55. Geografía, I.N.d.E.y. *Estadística de Nacimientos Registrados en 2021*. 2021 [cited 2023 21 Marzo]; Available from: <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2022/NR/NR2021.pdf>.
56. Secretaría de Salud, C.N.d.E.d.G.y.S.R. *Lineamiento técnico cesárea segura*. 2022 [cited 2023 Marzo 16]; Available from: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/11089/Cesarea_Segura_2014.pdf.
57. Andreas, N.J., et al., *Impact of maternal BMI and sampling strategy on the concentration of leptin, insulin, ghrelin and resistin in breast milk across a single feed: a longitudinal cohort study*. *BMJ Open*, 2016. **6**(7): p. e010778.
58. Hernández Higareda, S.P.-P., O.; Balderas-Peña, L.; Martínez-Herrera, B.; Salcedo-Rocha, A.; Ramírez-Conchas, R. , *Enfermedades metabólicas maternas asociadas a sobrepeso y obesidad pregestacional en mujeres mexicanas que cursan con embarazo de alto riesgo*. *Cirugía y Cirujanos*, 2017. **85**: p. 292-298.
59. Herring, S.O., E, *Ganancia de peso durante el embarazo: Su importancia para el estado salud materno-infantil*. *Annales Nestlé (Ed. Española)*, 2010. **68**(1): p. 497-509.

60. Fall, C.H.D. and K. Kumaran, *Metabolic programming in early life in humans*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2019. **374**(1770): p. 20180123.
61. Andreas, N.J., et al., *Effect of maternal body mass index on hormones in breast milk: a systematic review*. PLoS One, 2014. **9**(12): p. e115043.
62. González de Cosío Martínez, T. and S. Hernández Cordero, *Lactancia materna en México*. 2016, México: Intersistemas, S.A. de C.V.
63. Neville, M.C., et al., *Studies in human lactation: milk volumes in lactating women during the onset of lactation and full lactation*. Am J Clin Nutr, 1988. **48**(6): p. 1375-86.
64. FAO. *Capítulo 7: Lactancia materna*. [cited 2023 21 Marzo]; Available from: <https://www.fao.org/3/w0073s/w0073s0b.htm>.
65. Acquarone, E., et al., *Resistin: A reappraisal*. Mech Ageing Dev, 2019. **178**: p. 46-63.
66. Ramiro-Cortijo, D., et al., *Association of maternal body composition and diet on breast milk hormones and neonatal growth during the first month of lactation*. Front Endocrinol (Lausanne), 2023. **14**: p. 1090499.
67. Whitmore, T.J., et al., *Analysis of insulin in human breast milk in mothers with type 1 and type 2 diabetes mellitus*. Int J Endocrinol, 2012. **2012**: p. 296368.
68. de Fluiter, K.S., et al., *Appetite-regulating hormone trajectories and relationships with fat mass development in term-born infants during the first 6 months of life*. Eur J Nutr, 2021. **60**(7): p. 3717-3725.

ANEXOS

Anexo 1. Aprobación del 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 de noviembre de 2016

DRA. ELENA ZAMBRANO 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
DEL TLALPAN, CIUDAD DE MÉXICO
C.P. 014080
P R E S E N T E

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 2016
REF. 2060

La vigencia de la aprobación termina el día 03 de noviembre de 2017. Si la duración del estudio es mayor tendrá que solicitar la re-aprobación anual del mismo, informando sobre los avances y resultados parciales de su investigación e incluyendo todos los datos sobresalientes y conclusiones.

Sin más por el momento quedamos de usted.

ATENTAMENTE,


DR. CARLOS A. AGUILAR SALINAS
PRESIDENTE
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN


DR. ARTURO GALINDO FRAGA
PRESIDENTE
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

c.c.p. Dr. Gerardo Gamboa Jpola, Director de Investigación.
Avenida Vasco de Quiroga No. 15
Colonia Belisario Domínguez Sección XVI
Delegación Tlalpan
Código Postal 14080
México, Distrito Federal
Tel. (52) 5487 0900
www.incmnsz.mx


-3 NOV 2016
COMITÉ DE ÉTICA
EN INVESTIGACIÓN

Anexo 2. Aprobación del Comité de Ética e Investigación de la Secretaría de Salud.


Ciudad de México, 26 de mayo de 2016
Oficio No. SSD/OGPCS/DE/SECIUUD/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
PRESENTE:**

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 404/001/01/16.

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, quien 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 RAMÍREZ
PRESIDENTE.
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD

E.C.D. Mtro. Luis Ángel Vázquez Martínez - Director de Planeación y Coordinación Sectorial de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México - Presente.
E.C.D. Dr. Alejandro Posada Nevil - Director de Atención Integral Magdalena Carteras - Presente.
E.C.D. Dr. José Luis Sánchez Manríquez - Jefe de Enseñanza e Investigación del Hospital Materno Infantil Magdalena Carteras - Presente.
E.C.D. Archivo.

RMM


SECRETARÍA DE SALUD
Dirección de Educación e Investigación
Subdirección de Educación Continua e Investigación
Avenida N° 25, 2° Piso, San Nicolás, C.P. 06013
Caj. Santo-Juano, Tel. 5152-250 Ext. 1305, 1436, 1302