



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA

**COMPOSICIÓN DE LA LECHE DURANTE LA LACTANCIA DE MUJERES CON
SOBREPESO U OBESIDAD: MACRONUTRIMENTOS Y HORMONAS REGULADORAS
DE LA INGESTA ALIMENTARIA**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. EN C. BADILLO SUÁREZ PILAR AMELLALI

TUTOR PRINCIPAL: DRA. MARICELA RODRÍGUEZ CRUZ
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CMN SXXI IMSS.

CÓMITE TUTOR: DR. SAMUEL CANIZALES QUINTEROS
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

CÓMITE TUTOR: DR. RICARDO MEJÍA ZEPEDA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX, SEPTIEMBRE 2023.



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

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA

**COMPOSICIÓN DE LA LECHE DURANTE LA LACTANCIA DE MUJERES CON
SOBREPESO U OBESIDAD: MACRONUTRIMENTOS Y HORMONAS REGULADORAS
DE LA INGESTA ALIMENTARIA**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. EN C. BADILLO SUÁREZ PILAR AMELLALI

TUTOR PRINCIPAL: DRA. MARICELA RODRÍGUEZ CRUZ
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CMN SXXI IMSS.

CÓMITE TUTOR: DR. SAMUEL CANIZALES QUINTEROS
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

CÓMITE TUTOR: DR. RICARDO MEJÍA ZEPEDA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX, SEPTIEMBRE 2023.

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD (FACULTAD DE MEDICINA)
OFICIO: CGEP/CPCB/FMED/552/2023
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **08 de mayo de 2023** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante **BADILLO SUÁREZ PILAR AMELLALI** con número de cuenta **301585288** con la tesis titulada "**COMPOSICIÓN DE LA LECHE DURANTE LA LACTANCIA DE MUJERES CON SOBREPESO U OBESIDAD: MACRONUTRIMENTOS Y HORMONAS REGULADORAS DE LA INGESTA ALIMENTARIA**", realizada bajo la dirección de la **DRA. MARICELA RODRÍGUEZ CRUZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. TATIANA FIORDELISIO COLL
Vocal: DR. ALONSO ANTONIO VILCHES FLORES
Vocal: DRA. ANDREA SACHI DÍAZ VILLASEÑOR
Vocal: DRA. KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA
Secretario: DR. SAMUEL CANIZALES QUINTEROS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 26 de julio de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno
AGNS/RCHT/EARR/rcht



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la formación académica que me brindó y por todas las oportunidades de crecimiento dentro y fuera de sus aulas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de Doctorado 326475.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Nutrición Molecular de la Unidad de Investigación Médica en Nutrición del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social y fue financiado por dicha institución a través del programa de "Apoyo financiero para el desarrollo de protocolos de investigación y desarrollo tecnológico sobre temas prioritarios de salud (FIS/IMSS/PROT/PRI0/15/045) y por Kellogg's (Apoyo a Proyectos de Investigación en Nutrición, 2015). Por lo que agradezco el apoyo proporcionado por estas Instituciones.

A la Dra. Maricela Rodríguez Cruz, por toda su intervención, paciencia y su sabia dirección durante mi estancia en el laboratorio, sin duda alguna es un gran ejemplo.

A los miembros del comité tutorial, por el tiempo dedicado durante mis estudios de posgrado y por sus valiosas aportaciones en la fase experimental de este trabajo:

Dr. Samuel Canizales Quinteros

Dr. Ricardo Mejía Zepeda, gracias infinitas por todo su apoyo, consejos, palabras de aliento durante tantos años.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

Gracias infinitas a cada una de las mujeres que confiaron en nosotros y nos abrieron las puertas de su hogar permitiéndonos ser parte de uno de los momentos más importantes de su vida, gracias por la confianza y paciencia mostrada hacia nuestro trabajo y por permitirnos guiarlas en este mágico proceso de la lactancia materna.

Al equipo de Lactancia Materna de la UIMF en Nutrición del Hospital de Pediatría del CMN SXXI IMSS. Gracias **Xóchitl** y **Maya** por su valioso apoyo para iniciar este proyecto, por sus ideas y sugerencias para ir mejorando en los talleres impartidos y en las visitas, gracias infinitas niñas. **Mary, Ricardo, Chayo, Itzel** y **Pedro**, gracias por su compromiso, su entrega, por todas las horas extras destinadas al trabajo en las clínicas, en el laboratorio y en los domicilios de las pacientes, pero sobre todo por su hermandad y por todas las experiencias y aprendizajes forjados durante su estancia en el hospital. Gracias a cada uno **de “los chicos lactancia”** pues sin duda alguna fueron parte importante del equipo, brindando tranquilidad y confort a cada una de las mamitas participantes.

A la Dra. Judith Villa, por tu intervención en la fase experimental, por sus consejos y acompañamiento durante mi formación académica y por la amistad que nos ha unido durante tantos años.

A todo el equipo del laboratorio de Nutrición Molecular la UIMF de CMN SXXI del Hospital de Pediatría, por su apoyo en el laboratorio y por sus comentarios y críticas constructivas durante la realización de los proyectos derivados de esta línea de investigación.

A las trabajadoras sociales de las UMF 4 y 10, por abrirnos las puertas de sus centros de trabajo y por promocionar con las “mamás” nuestra labor, gracias por todo el trabajo en equipo y por confiar en nosotros.

Al Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), por las facilidades concedidas para la realización de este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por TODO LO QUE ME HA BRINDADO, oportunidades de crecimiento académico y como profesional de la salud.

DEDICATORIAS

A Dios, porque mi vida siempre ha estado colmada de bellas bendiciones, por permitirme culminar uno más de mis sueños, por mostrarme día a día tu infinito amor y por concederme el regalo de ser madre, pues sin duda eso me permitió comprender desde el corazón a cada una las participantes y a mis pequeños pacientitos.

A mis grandes amores, mis hermosas hijitas: **July Sofita**: mi vidita, gracias infinitas por brindarme el amor más puro que existe y por llenar de color, risas y alegría mi vida. **Paulita**: mi corazoncito bello, gracias por multiplicar exponencialmente mi felicidad, por enseñarme que el amor crece y crece con cada mirada, con cada sonrisa. Esto es por y para ustedes mis niñas, pues son mi motor para seguir adelante y la fuerza para culminar cada meta propuesta, las amo y he amado siempre desde todos los tiempos y hasta la eternidad. ¡Mis niñas lo logramos!

A mi esposo Juan Carlos, gracias corazón, por tu amor y comprensión en cada etapa, pero, sobre todo, por confiar en mí a pesar de que en momentos veía lejana la meta, siempre estaré infinitamente agradecida por coincidir en esta vida y por nuestra hermosa familia.

A mi Mamita, por ser mi hermoso ángel terrenal y mi mayor ejemplo de fe, bondad, fortaleza y entrega, sin duda alguna, todo lo que he logrado te lo debo a ti.

A mi tía Ale, por todo tu amor, ternura, luz y dedicación, por no permitirme perder la fe y siempre ayudarme a encontrar la luz.

A mi tía Betty, por ser mi mejor ejemplo de excelencia, perseverancia y entrega, gracias por tu amor y por tu apoyo en cada etapa de mi vida.

Desde lo más profundo de mi alma, quiero agradecer a las tres grandes mujeres que se han entregado en cuerpo, alma y corazón al cuidado de **mis hijitas “mi mayor tesoro”**. Mami **“abolita Tere”**, **Ale** y **Bettys**, gracias por el gran amor, paciencia y entrega con mis niñas, gracias por todo su apoyo para mi familia. Sin duda el tener la tranquilidad de que mis pequeñas están cobijadas y protegidas por el amor de ustedes me permitió culminar este gran sueño. Somos muy afortunados, por contar con ustedes.

A mi papá, por su amor y entrega.

A mis abuelitos, por su amor y apoyo para mi familia, por recibirnos con tanto cariño en la “**casa de los bis**”.

A mi tía Chabe, por tu ejemplo de fortaleza y valentía. **A mi tía Chela**, por ser luz y esperanza para mí y mi familia, por mostrarme el camino a seguir, por todo tu apoyo. **A mi tía Male**, por tu cariño, tus consejos, tu apoyo y por tu ejemplo de lucha y fortaleza.

A mi hermano Giovanni, mi sobrinita Romy y mis primos: Daniel, Mariana, Satoru, Gabriela y Fernanda; porque siempre tienen los mejores consejos para resolver cualquier problema, por apoyar mis locuras, por todas las experiencias y momentos inolvidables que hemos compartido.

A la familia **Martínez Colín**, la familia **Martínez Arenas** y a la familia **Vega Martínez** por su apoyo y cariño.

A Ruth, por tu hermandad, pues a través de los años he comprobado que nuestras almas se tenían que reencontrar para ayudarse a crecer en el y desde el amor. Te adoro amiga de mi corazón.

A Irma, por tu incondicional y peculiar amistad, pues nos hemos mantenido juntas las tres durante tantos años.

A Ismael, por acompañarme en cada paso, hasta tu repentina partida.

*“La lactancia es el cordón umbilical que nos mantiene
unidos, es el amor, es la sangre que corre por nuestras
venas.”*

Anónimo

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ABREVIATURAS

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN	5
A) SOBREPESO Y OBESIDAD.....	8
B) PREVALENCIA DE SOBREPESO Y OBESIDAD	9
C) LACTANCIA MATERNA.....	9
D) PRODUCCIÓN Y SECRECIÓN LÁCTEA.....	11
E) DESARROLLO DE LA GLÁNDULA MAMARIA.....	12
1) Periodo mamotrófico	12
2) Período lactogénico.....	13
3) Período lactopoyético.....	15
4) Tipos de leche materna	17
5) Composición de la leche humana	19
a. Macronutrientes.....	19
b. Hormonas reguladoras de la ingesta alimenticia.....	20
ANTECEDENTES	25
a. Lactancia y Obesidad.....	25
b. Macronutrientes	26
JUSTIFICACIÓN	35
HIPOTESIS	37
OBJETIVO GENERAL.....	38
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
METODOLOGÍA	39
D) CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO.....	39
E) TAMAÑO DE LA MUESTRA	40
F) GRUPOS DE ESTUDIO.....	41
G) TRABAJO DE CAMPO.....	41
1. Registro de las mediciones antropométricas de las madres.....	42

2. Registro de las mediciones antropométricas del neonato.....	43
3. Obtención de muestras de sangre periférica y leche materna	43
H) TRABAJO DE LABORATORIO	44
4. Cuantificación de insulina, obestatina e IGF-1.....	44
5. Integridad, cuantificación y pureza del RNA total.....	46
6. Síntesis de cDNA.....	47
7. Cuantificación de los transcritos mediante PCR en tiempo real.....	47
8. Determinación del perfil de expresión génica de IGF-1 en lactocitos de los tres tipos de leche	48
9. Análisis estadístico.....	49
RESULTADOS.....	51
TRABAJO DE CAMPO.	51
Mediciones antropométricas maternas.....	51
Registro de las mediciones antropométricas del neonato.	53
Influencia de la grasa corporal sobre los niveles de insulina, IGF-1 y la Obestatina en la LM y Suero/Plasma de las madres.....	55
Correlación entre el porcentaje de adiposidad materna con las concentraciones de insulina, IGF-1 y obestatina.....	58
Cambios en la concentración de insulina, IGF-1 y obestatina en leche y en circulación durante el primer mes posparto.....	64
Cambios en la expresión del RNAm de IGF-1 después del parto.	67
DISCUSIÓN	68
CONCLUSIONES	81
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
ANEXO 1. ARTICULO REQUISITO (ARTICULO REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO).....	95
ANEXO 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO	109
ANEXO 3. CUESTIONARIO DATOS GENERALES.....	112
ANEXO 4. VALORACIÓN NUTRICIA (RECORDATORIO DE ALIMENTOS).....	114
ANEXO 5. CALCULO DEL ÍNDICE HOMA	118

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la glándula mamaria (modificado de: Mobasheri y Barrett-Jolley, 2014).	11
Figura 2. Regulación hormonal del periodo mamotrófico. Desarrollo morfológico la glándula mamaria: Etapa 1(durante el desarrollo embrionario e infancia) y la Etapa 2 (durante la pubertad y adultez), esta última etapa se presente de forma cíclica.	13
Figura 3. Regulación hormonal del periodo lactogénico. En este periodo intervienen los estrógenos, la progesterona, la prolactina y el lactógeno placentario humano (HPL) con la finalidad de que las estructuras mamarias alcancen su maduración fisiológica.	14
Figura 4. Regulación neuroendocrina del periodo lactopoyético.	16
Figura 5. Regulación neuroendocrina del apetito.	21
Figura 6. Curvas de disociación IGF-1..	49
Figura 7. Porcentaje de lactantes en los percentiles "peso para la talla". Se muestran los datos obtenidos al nacer, a los 3-7 días, 14-15 días y a los 30 días.	55
Figura 8. Correlación entre el porcentaje de adiposidad materna con la concentración de insulina del suero y de la LM madura (n = 58). Correlación de Pearson.	58
Figura 9. Correlación entre la adiposidad materna y las concentraciones IGF-1 de la LM y de la sangre. (n = 58). Correlación de Pearson.	59
Figura 10. Correlación de la obestatina del torrente sanguíneo y de la LM con la adiposidad materna. (n = 58). Correlación de Pearson.	60
Figura 11. Cambios en la concentración de insulina en el suero(A) y en la leche humana (B) de mujeres con adiposidad saludable y no saludable.	64
Figura 12. Cambios en la concentración de IGF-1en el suero(A) y en la leche humana (B) de mujeres con adiposidad saludable y no saludable.....	65
Figura 13. Cambios en la concentración de obestatina en el suero(A) y en la leche humana (B) de mujeres con adiposidad saludable y no saludable Los datos se presentan como media (desviación estándar). % MG= porcentaje de masa grasa.	66
Figura 14. Cambios en la expresión de IGF-1, caseína y α -Lactoalbúmina en los lactocitos provenientes de calostro, leche de transición y leche madura.	
Figura 15. Diferencias en la concentración de hormonas séricas y secretadas en la LM en mujeres con diferente % MG.	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de la leche humana.	18
Tabla 2. Secuencia de los <i>pimers</i>	48
Tabla 3. Datos demográficos de mujeres lactando con diferente estado nutricional.	52
Tabla 4. Antropometría infantil durante el primer mes de vida.	54
Tabla 5. Concentración de insulina, IGF-1 y obestatina en el suero o plasma y la LM entre mujeres con diferente %MG.	57
Tabla 6. Asociación entre la adiposidad materna y la insulina, IGF-1 y obestatina	61
Tabla 7. Concentración de insulina, IGF-1 y obestatina entre la LM y el torrente sanguíneo.	63
Tabla 8. Índice de Resistencia a la Insulina HOMA-IR	118

ABREVIATURAS

ADIPOQ: gen que codifica adiponectina.

AgRP: péptido relacionado con *Agouti*.

ARC: núcleo arcuato.

CART: transcrito relacionado con cocaína y anfetamina.

Cq: “ciclo umbral” por sus siglas en inglés *cycle threshold*.

EIA: “inmunoensayo enzimático” por sus siglas en inglés *Enzyme Immunoassay*

ELISA: “ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas” por sus siglas en inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*.

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

FNDC5: gen que codifica para la irisina.

DMG: diabetes mellitus gestacional.

GHRL: gen que codifica para la grelina.

GM: glándula mamaria.

HRI: hormonas que regulan la ingesta de alimentos.

IGF-1: factor de crecimiento insulínico tipo 1 por sus siglas en inglés *insulin like growth factor 1*.

IMC: índice de masa corporal.

INEGI: instituto nacional de estadística y geografía.

LEP: gen que codifica para leptina.

LM: leche materna.

mRNA: por sus siglas en inglés *Messenger RNA*.

NPY: neuropéptido Y.

PCR: “reacción en cadena por la polimerasa” por sus siglas en inglés *polymerase chain reaction*.

POMC: proopiomelanocorticona.

RETN: gen que codifica para resistina.

q-PCR: “reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real” por sus siglas en inglés *quantitative polymerase chain reaction*.

SNC: sistema nervioso central.

TAB: tejido adiposo blanco.

TAG: triacilglicéridos

TGI: tracto gastrointestinal.

TM: por sus siglas en inglés *Melting Temperature*

OMS: Organización Mundial de la Salud

%MG: porcentaje de masa grasa

RI: resistencia a la insulina

UNICEF: Fondo Internacional de Emergencia de las Naciones Unidas para la Infancia por sus siglas en inglés *United Nations International Children’s Emergency Fund*.

RESUMEN

Antecedentes: La leche materna contiene compuestos que influyen en el metabolismo del lactante, tal como la insulina, la obestatina y el IGF-1 los cuales podrían estar involucrados en la programación nutricional. **Objetivo:** Determinar la influencia del porcentaje de masa grasa materna (%MG) sobre la concentración de insulina, obestatina e IGF-1 en suero y leche materna (LM). **Material y métodos:** Se incluyeron 58 mujeres durante el primer mes de lactancia. Las participantes se estratificaron de acuerdo a su %MG en: <32% ($n = 28$ mujeres) o >32% ($n = 30$ mujeres) para determinar mediante ensayos de ELISA las concentraciones de insulina, obestatina y IGF-1 en la LM y en el suero materno a los 3-5, 14-15 y 30 días postparto. Se analizó la expresión de IGF-1 en lactocitos de la LM, mediante RT-qPCR. La composición corporal materna fue determinada mediante pruebas de bioimpedancia eléctrica. Se utilizó la prueba *t de Student* y el análisis de varianza de medidas repetidas para evaluar las diferencias entre los grupos. Se utilizó la prueba de Pearson para analizar las asociaciones. **Resultados:** Las concentraciones de insulina fueron mayores en mujeres con obesidad tanto en el suero [15.1 (1.7 μ UI/mL)] como en la LM [17.3 (1.4) μ UI/mL] en comparación con las mujeres con adiposidad saludable [8.5 (1.8 μ UI/mL)] y [12.2 (1.4 μ UI/mL)] respectivamente a partir del día 14 postparto. Las concentraciones de obestatina séricas [245.7 (1.1 pg/mL)] y de la LM [544.7 (1.0 pg/mL)] fueron significativamente menores en mujeres con obesidad que la observada en las mujeres con adiposidad saludable [278.2 (1.1 pg/mL)] y [570.6 (1.0 pg/mL)] respectivamente desde los días 3-5 postparto. Además, las concentraciones de IGF-1 séricos [20.5 (4.8 ng/mL)] y de la LM [25.4 (3.6 ng/mL)] fueron más altos en las mujeres con obesidad en comparación con las mujeres con adiposidad saludable [5.9 (5.0 ng/mL)] y de la LM [6.6 (5.9 ng/mL)] respectivamente. Se encontró disminución de la obestatina plasmática y de la LM tanto en

mujeres con adiposidad saludable y no saludable de la leche de transición a la leche madura. Mientras que la concentración de IGF-1 se modificó durante el primer mes de lactancia en ambos grupos tanto en las muestras de sangre como en las de LM. Se observó correlación negativa en la concentración de obestatina plasmática y de la obestatina de la LM madura con el % de MG materno a los 30 días postparto. Mientras que la concentración de IGF-1 e insulina de la LM mostraron correlación positiva con el % de MG a los 30 días. La expresión del RNAm de IGF-1 en los lactocitos se mantuvo entre 1 y 1.5 unidades relativas durante el primer mes de lactancia materna. **Conclusión:** la leche materna de madres con obesidad proporciona una mayor cantidad de insulina, IGF-1 y una menor concentración de obestatina, finalmente se describe la expresión de IGF-1 por primera vez en los lactocitos.

ABSTRACT

Background: Human milk contains bioactive compounds, that influence the infant's metabolism, such as insulin, obestatin, and IGF-1, which could be involved in nutritional programming. Objective: To determine the influence of the maternal body fat (%BF) on the concentration of insulin, obestatin and IGF-1 in serum and human milk (HM). Material and methods: 58 women during the first month of lactation were included in the study. Participants were stratified according to their %BF <32% (n = 28 women) or >32% (n = 30 women) to determine by ELISA assays the concentrations of insulin, obestatin and IGF-1 in the HM and in maternal serum. Samples were collected at 3-5, 14-15 and 30 days postpartum. Maternal body composition was determined by electrical bioimpedance tests. IGF-1 expression in LM lactocytes was analyzed by RT-qPCR. Student's t-test and repeated measures analysis of variance were used to assess differences between groups. Pearson's test was used to analyze the associations. Results: Insulin concentrations were higher in obese women both in serum [15.1 (1.7 μ IU/mL)] and in HM [17.3 (1.4) μ IU/mL] compared to women with healthy adiposity [8.5 (1.8 μ IU/mL)] and [12.2 (1.4 μ IU/mL)] respectively from day 14 postpartum. Blood plasma obestatin [245.7 (1.1 pg/mL)] and HM [44.7 (1.0 pg/mL)] concentrations were significantly lower in women with obesity than those observed in women with healthy adiposity [278.2 (1.1 pg/mL)] and [570.6 (1.0 pg/mL)] respectively from days 3-5 postpartum. In addition, serum IGF-1 [20.5 (4.8 ng/mL)] and HM [25.4 (3.6 ng/mL)] concentrations were higher in women with obesity compared with women with healthy adiposity [5.9 (5.0 ng/mL)] and HM [6.6 (5.9 ng/mL)] respectively. A decrease in plasmatic obestatin and HM was found in women with healthy and unhealthy adiposity from 14-15 postpartum days to 30 postpartum days. While the concentration of

IGF-1 remained variable during the first month of lactation in both groups, both in blood and LM samples. A negative correlation was observed in the concentration of plasmatic obestatin and obestatin in mature HM with the % of maternal BF at 30 days postpartum. IGF-1 mRNA expression in lactocytes was maintained between 1 and 1.5 relative units during the first month of breastfeeding. While the concentration of IGF-1 and insulin present in the HM showed a positive correlation with the % of BF at 30 days. Conclusion: breast milk from mothers with obesity provides a higher amount of insulin, IGF-1 and a lower concentration of obestatin, finally the expression of IGF-1 is described for the first time in lactocytes.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en los últimos años, la ingesta excesiva de alimentos hipercalóricos y la disminución del gasto energético han duplicado a nivel mundial la prevalencia de sobrepeso y de obesidad (1-2). Desde hace algunas décadas los reportes epidemiológicos han mostrado que México es uno de los países mayormente afectados por estas alteraciones nutricias, posicionándolo en los primeros lugares a nivel mundial (2-4). Estas patologías representan un problema grave de salud pública, ya que las personas que padecen sobrepeso u obesidad generalmente presentan cuadros de hipertensión causados por la elevación de colesterol total y triglicéridos, e intolerancia a la glucosa, así como enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (1,3-4). Considerando los datos reportados en las Encuestas Nacionales de Salud y Nutrición 2012 y 2018 el género femenino ha sido el más afectado (ENSANUT 2012- 2018), mostrando un incremento de obesidad del 2.7% en el periodo 2012 (37.5%) a 2018 (40.2%).

Por lo que es necesario tomar en cuenta, que las afecciones médicas presentes en mujeres con sobrepeso u obesidad pueden agravarse durante la gestación, poniendo en riesgo al binomio (madre-producto). Es preciso enfatizar que la gestación genera cambios fisiológicos en la mujer, con la finalidad de cubrir las necesidades fisiológicas de ambos, tal es el caso del incremento del volumen sanguíneo y de la glucosa (5). Sin embargo, en las mujeres gestantes con obesidad la concentración de glucosa puede ser aún mayor, incrementando así la secreción de insulina, por lo que, el estado transitorio de resistencia a la insulina puede exacerbarse y mantenerse por más tiempo, lo que podría ocasionar retraso en el crecimiento intrauterino durante los primeros meses de gestación o podrían

presentar hiperglucemia prolongada desencadenando diabetes gestacional en la madre causando macrosomía fetal (6-7).

Así mismo, la alteración del estado nutricional materno podría tener implicaciones durante el periodo de ***lactancia*** ya que la calidad y la composición de la leche depende principalmente de éste. Es importante mencionar que, la Organización Mundial de la Salud (OMS 2018) recomienda la lactancia materna exclusiva, al menos durante los primeros 6 meses de vida, excluyendo el consumo de cualquier otro alimento que no sea el que se deriva del seno materno (8). La leche materna (LM) además de cubrir los requerimientos nutricionales del lactante, también potencializa la protección inmunológica, influye positivamente en el desarrollo y maduración del sistema nervioso central y del digestivo e influye en el metabolismo del lactante. Además, diversos estudios muestran los beneficios de la LM sobre el crecimiento infantil, tanto en peso como en talla (8-9).

La composición láctea se modifica durante el periodo de lactancia, respondiendo a las necesidades nutricionales del infante, por lo que la UNICEF (Fondo de las Naciones Unidas para la infancia) distingue tres tipos de leche: el calostro, la leche de transición y la leche madura (10). El calostro se produce durante los primeros 7 días post-parto, el cual es un líquido de alta densidad energética. La leche de transición se produce entre el 8º y el 14º día postparto, en la cual la cantidad de hidratos de carbono y lípidos incrementa, mientras que la concentración de las proteínas disminuye casi en un 50% respecto al calostro (Tabla 1). Finalmente se produce la leche madura la cual se secreta en promedio alrededor de 700-900 mL/día, en la cual la fracción proteica continúa disminuyendo, mientras que el contenido lipídico incrementa en comparación con la leche de transición (9,11).

Adicionalmente se ha comprobado que la LM, además de ser una fuente nutritiva, ejerce un control sobre el metabolismo del recién nacido al transferirle hormonas; ya que

algunas de ellas muestran un efecto protector contra la obesidad y al ser reguladoras del consumo alimentario podrían influir en la programación nutricia, tal es el caso de la insulina, obestatina y el factor de crecimiento tipo insulina 1 (*IGF-1*) (9,11-13). La **insulina** interviene en el metabolismo de la glucosa, incrementando su transporte a nivel muscular y en el tejido adiposo (12). La **obestatina** es una hormona que inhibe la ingesta de alimento, interviene en la disminución del peso corporal, en el vaciamiento gástrico y en la motilidad intestinal. Finalmente, el **IGF-1** interviene en la regulación del crecimiento postnatal (11-13).

Tomando en cuenta que México es uno de los países con tendencia incrementada de sobrepeso y obesidad (ENSANUT 2018) y que el estado nutricional materno durante el periodo de lactancia puede influir en el desarrollo del recién nacido, por lo que sería importante conocer si la composición láctea (macronutrientes) y la concentración de hormonas reguladoras de la ingesta alimentaria en la LM proveniente de mujeres que presentan alguna de estas afecciones es diferente a la de mujeres normo-peso. Generando las bases teóricas, que permitan consecutivamente diseñar estrategias para mejorar la composición de la LM, como el diseño de un plan nutricional personalizado o la suplementación nutricional para las mujeres lactantes, de acuerdo a su estado nutricional y así favorecer de forma indirecta el proceso de “Programación nutricional” del infante.

A) SOBREPESO Y OBESIDAD

El sobrepeso es un estado premórbido de la obesidad y se caracteriza por un incremento del peso corporal por encima de un patrón dado en relación con la talla. Esta afección se produce por un desequilibrio energético, provocando la acumulación de grasa corporal (1,12). Por otra parte, la obesidad, se define como un exceso de tejido adiposo resultado de un balance positivo de energía, el cual ocurre cuando la ingesta calórica excede al gasto energético (1,3,14).

Es importante considerar que, la obesidad se ha constituido como la enfermedad metabólica más frecuente siendo de naturaleza multifactorial compleja al ser una patología crónica cuya prevalencia ha incrementado importantemente, convirtiéndola en un problema de salud pública a nivel mundial (1,4). El excesivo consumo de alimentos con alto contenido lipídico, sal y azúcares y un bajo gasto de energía predisponen al desarrollo de alteraciones metabólicas. La obesidad es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de hipertensión, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2; siendo estas dos últimas las principales causas de muerte en México (2). Es decir, que esta condición puede desencadenar o agravar otras enfermedades metabólicas reduciendo la expectativa de vida del individuo (1,15).

A nivel mundial los cambios en el estilo de vida y el confinamiento debido a la contingencia sanitaria por la pandemia causada por el SARS-COV-2 han aumentado la prevalencia de obesidad a más del doble, de acuerdo con lo reportado por la OMS, por lo cual este organismo ha declarado a estos padecimientos con el carácter de epidemia mundial (1).

B) PREVALENCIA DE SOBREPESO Y OBESIDAD

En México, el 76.8% de las mujeres mayores de 20 años, padece sobrepeso u obesidad en comparación con el 73% del género masculino; es importante considerar, que de acuerdo con el Consejo Nacional de la Población (CONAPO 2021) (16), la edad en la que el mayor porcentaje de mujeres decide embarazarse oscila entre 23 y 37 años, importantemente en este grupo es mayor la prevalencia de sobrepeso y obesidad, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2018; ya que se reportó que el 36.6% presentaron sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) y mientras que el 40.2% de las mujeres padecían obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) (4).

La información epidemiológica pone en evidencia la gravedad que representa la obesidad y el sobrepeso en mujeres en edad reproductiva y que estas condiciones podrían afectar negativamente el metabolismo de su descendencia. Debido a que modelos experimentales y estudios epidemiológicos han sugerido que la nutrición temprana es un factor clave para el desarrollo de obesidad a *posteriori*, apoyando el concepto de programación nutricia (11,14). Especialmente, se ha sugerido que la **lactancia** podría desempeñar un papel importante en el proceso de programación durante el periodo postnatal (13-15).

C) LACTANCIA MATERNA

La lactancia materna (LM) exclusiva, es definida por la OMS como la ingesta de leche materna, que prescinde el consumo de cualquier otro alimento que no sea el derivado del seno materno (8). Es un proceso fisiológico mediante el cual la madre, a través de la leche, le provee al neonato los nutrimentos, factores de crecimiento y componentes

inmunológicos necesarios para un adecuado crecimiento y desarrollo durante al menos los primeros seis meses de vida (9,11,14).

El consumo de LM le confiere al lactante numerosos beneficios, por ejemplo, se ha descrito que la LM potencializa la protección inmunológica frente a las infecciones tales como la diarrea o la neumonía, los procesos alérgicos e influye positivamente en el desarrollo y maduración del sistema nervioso central y de la retina (8, 14-15). Adicionalmente, se ha demostrado en diferentes poblaciones su beneficio en el crecimiento infantil, tanto en peso corporal como en la talla (9,11,17). De igual manera, existen evidencias científicas del efecto protector de la leche materna para el neonato al asociarla con una menor prevalencia de sobrepeso y de obesidad (17).

No obstante, a pesar de todos los beneficios que le otorga al neonato consumir LM en México la lactancia materna ha tenido cambios drásticos en los últimos años. De acuerdo con la ENSANUT, en los años previos se había reportado la disminución en la prevalencia de la lactancia materna ya que en el 2000 se registró que el 30.5% de las mujeres alimentaban al seno materno a sus lactantes durante los primeros 6 meses de vida. Sin embargo, para el 2006 el porcentaje descendió al 23.2% y para el 2012 volvió a disminuir drásticamente al 14.4%. En estas encuestas se refleja que las prácticas de lactancia en México estaban por debajo de la recomendación de la OMS.

Con el objetivo de promover la lactancia en México, diferentes Instituciones de Salud incluyendo el IMSS están realizando diferentes programas sociales para que las madres amamanten a sus hijos. Al parecer dichas estrategias están dando resultados positivos, ya que en la encuesta de la ENSANUT 2018, se reportó un aumento en la prevalencia de

la LM exclusiva, con un porcentaje anualizado del 28.6% (en lactantes menores de seis meses) (4).

D) PRODUCCIÓN Y SECRECIÓN LÁCTEA

La LM es producida por la glándula mamaria, la cual es un órgano glandular exocrino de origen ectodérmico, ubicado en la parte anterosuperior del tórax (pecho), encargado de la producción y secreción láctea durante la lactancia. Esta glándula está formada por tres tipos de tejidos: glandular de tipo túbulo-alveolar, conjuntivo que conecta los lóbulos, y adiposo que ocupa los espacios interlobulares y el estroma vascular (18).

El tejido glandular secretor está constituido por 15-20 lóbulos que se disponen radialmente hacia el pezón, cada uno de ellos tiene su aparato excretor, que se abre en el pezón a través de un conducto lactífero. Los lóbulos mamarios están constituidos por entre 20-40 lobulillos que se encuentran unidos entre sí por tejido conectivo, vasos sanguíneos y por su sistema excretor (Figura 1).

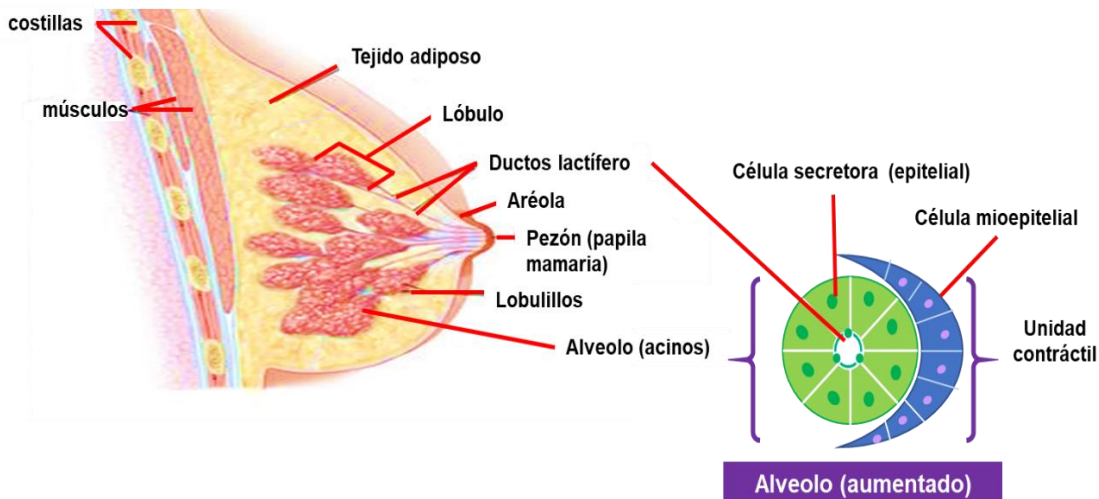


Figura 1. Anatomía de la glándula mamaria (modificado de: Mobasheri y Barrett-Jolley, 2014).

Cada lobulillo está constituido por numerosos alvéolos, los cuales son pequeñas vesículas o sacos formados por una lámina simple de células epiteliales “secretoras”, en disposición cúbica o columnar, que rodean la luz alveolar, en la cual se va recolectando la leche sintetizada (19-20). Los alvéolos están rodeados por células mioepiteliales formando una red laxa con numerosas ramificaciones que, al contraerse, como respuesta a la oxitocina, expulsan la leche hacia los conductos lactíferos (21).

Sin embargo, es necesario el desarrollo o maduración morfofuncional de la glándula para que adquiera su característica secretora, para lo cual debe pasar por diferentes períodos: a) mamotrófico, b) lactogénico y c) lactopoyético (8, 22-23).

E) DESARROLLO DE LA GLÁNDULA MAMARIA

1) *Periodo mamotrófico*

Inicia en el desarrollo embriogénico, continúa durante la pubertad y se reactiva en la gestación. En la primera etapa, la glándula es una excrecencia de la piel caracterizada por pequeñas arborizaciones o conductos primitivos que se propagan dentro del tejido subyacente (19). En la infancia, estos conductos continúan desarrollándose lentamente, aunque el proceso se inhibe por la secreción de testosterona. Durante la pubertad se produce una rápida extensión de los conductos por acción de los estrógenos ováricos.

A partir de la menarca, la mamogénesis se presenta de forma cíclica en las fases folicular y lútea del ciclo menstrual, para preparar a la glándula mamaria para la gestación (21, 23). En la primera fase, aumenta la concentración de estrógenos produciéndose pigmentación areolar, incremento en el depósito de los tejidos adiposo y conjuntivo, e

incremento ductal. Durante la fase luteínica, la progesterona aumenta, promoviendo el crecimiento lóbulo-alveolar (Figura 2) (22).

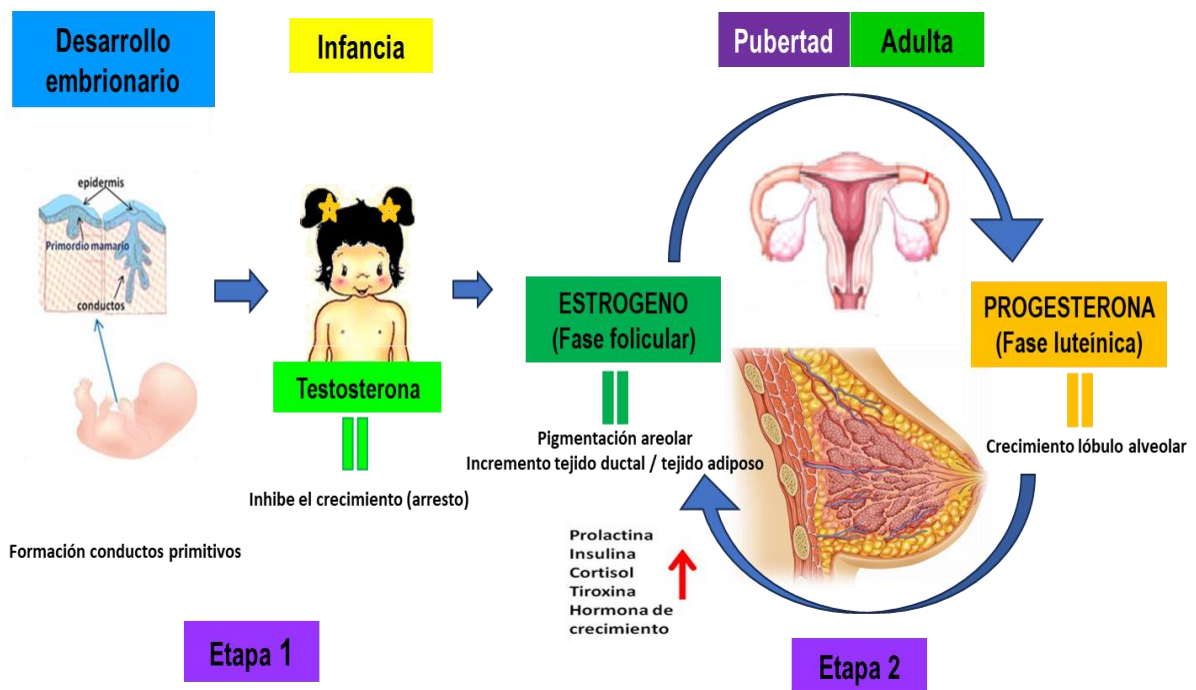


Figura 2. Regulación hormonal del periodo mamotrófico. Desarrollo morfológico la glándula mamaria: Etapa 1 (durante el desarrollo embrionario e infancia) y la Etapa 2 (durante la pubertad y adultez), esta última etapa se presenta de forma cíclica.

2) Período lactogénico

En el periodo gestacional se da el crecimiento de las glándulas mamarias y la maduración fisiológica de las células secretoras de los alvéolos. Durante este proceso intervienen los estrógenos, la progesterona, la prolactina y el lactógeno placentario humano (HPL), entre otras hormonas (21). En el inicio del periodo lactogénico la placenta juega un papel importante, ya que produce progesterona que incrementa a lo largo del embarazo, ocasionando el aumento en la proliferación y la maduración de los alvéolos y de las células secretoras del tejido mamario (18) (Figura 3).

El HPL tiene acción mamotrófica y lactogénica, también estimula el desarrollo fetal e interviene en la movilización de los lípidos del tejido adiposo materno para hacerlas disponibles como fuente de energía o para formar parte de las membranas celulares. Los estrógenos producidos por la placenta y la estimulación del pezón incrementan los niveles plasmáticos de prolactina, la cual tiene efecto directo sobre el crecimiento y la maduración alveolar. No obstante, después de la expulsión de la placenta en el parto, la producción de estrógenos y progesterona disminuye rápidamente, y sólo se mantiene la producción de prolactina (18-19).

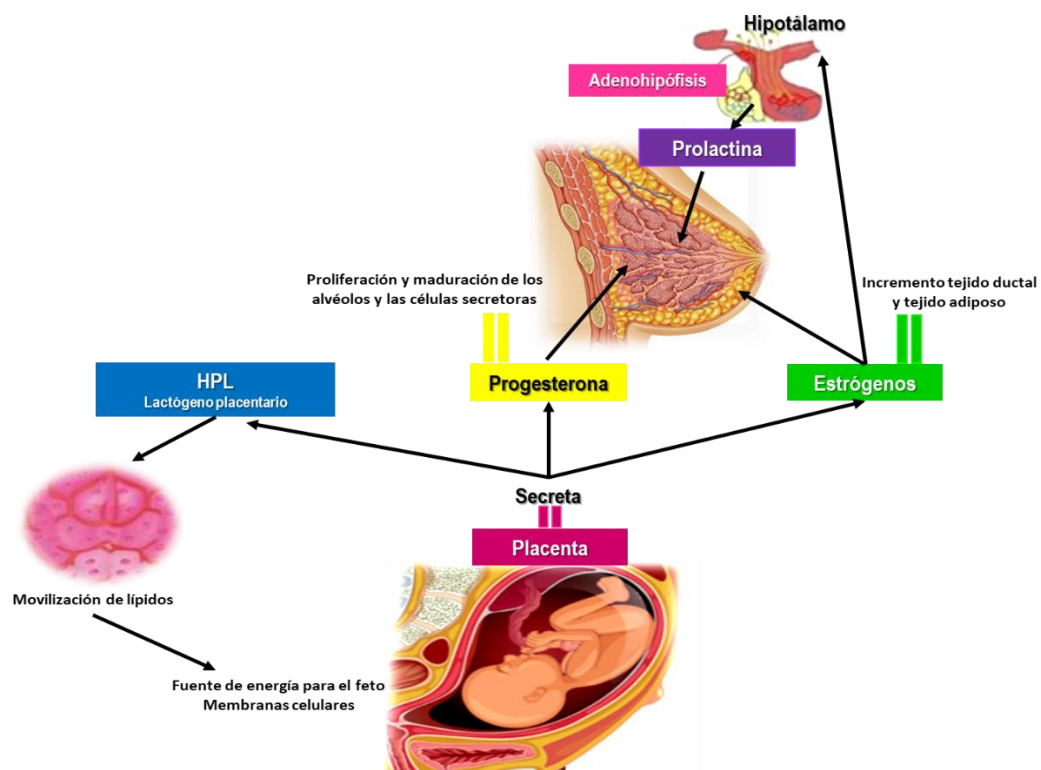


Figura 3. Regulación hormonal del periodo lactogénico. En este periodo intervienen los estrógenos, la progesterona, la prolactina y el lactógeno placentario humano (HPL) con la finalidad de que las estructuras mamarias alcancen su maduración fisiológica.

La secreción láctea distiende los alveolos que están tapizados por una capa de células cilíndricas bajas y a medida que aumenta la cantidad de secreción, las células se aplanan, desapareciendo los desmosomas (21-22).

3) *Período lactopoyético*

Finalmente se da el mantenimiento de la secreción láctea mediante un mecanismo neuroendocrino en el que intervienen la prolactina, la oxitocina y la dopamina, ésta última actúa como inhibidor de la prolactina (22). La oxitocina, es secretada por la neurohipófisis, desde el inicio del parto ya que es la encargada de contraer el útero para facilitar la expulsión del feto y la placenta, ocasionando la disminución inmediata del estrógeno y progesterona producidos por la placenta.

Después del nacimiento la liberación de la oxitocina hipofisaria se origina por un reflejo que se inicia en la mama, fundamentalmente por el estímulo que produce la succión del neonato en el pezón; ocasionando la contracción de las células mioepiteliales (lactocitos) y dando como resultado el vaciamiento de los alvéolos y de los conductos durante la eyección láctea (19, 23) (Figura 4). Sin embargo, la hormona encargada de la producción láctea es la prolactina la cual también está involucrada en el proceso de maduración fisiológica de la glándula mamaria, que tiene lugar durante la gestación y la lactancia los cuales involucran mecanismos de adaptación para preparar al organismo materno a procesos metabólicos de alta demanda (18, 21).

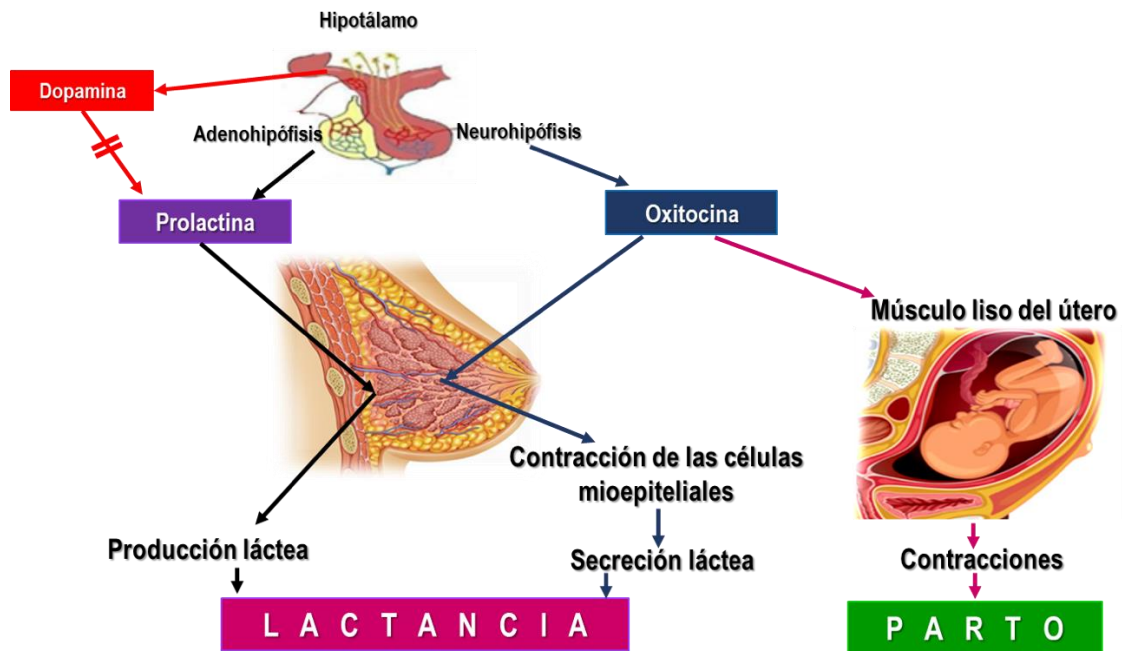


Figura 4. Regulación neuroendocrina del periodo lactopoyético.

Una vez que la glándula mamaria adquiere su carácter secretor, la producción láctea se mantiene durante la lactancia. No obstante, los componentes de la LM se modifican en respuesta a los requerimientos nutricios del lactante. Por ello, la UNICEF distingue tres tipos de leche con características definidas: el **calostro**, la **leche de transición** y la **leche madura** (Tabla 1) (8,10-11).

4) Tipos de leche materna

El **calostro** se produce durante los primeros 7 días después del parto, es de escaso volumen (2-20 mL/toma). Es un líquido amarillento debido a la alta concentración de β carotenos y de alta densidad energética; aporta 67 Kcal/100mL. Además, contiene una mayor cantidad de proteínas, vitaminas A y C, colesterol y algunos minerales como calcio, sodio, hierro, azufre y potasio en comparación con la leche de transición. Dentro de los factores de defensa que presenta en alta concentración se encuentran: la inmunoglobulina A, lactoferrina, linfocitos y macrófagos (8, 9).

La **leche de transición** se produce entre el 8^o y el 14^o día postparto. Entre el 4^o y 6^o día se produce un aumento súbito en la producción láctea, hasta alcanzar un volumen aproximado de 600 a 800 mL/día (10). La cantidad de hidratos de carbono y lípidos aumenta, mientras que la concentración de las proteínas principales (caseína [0.5g/100mL] y α -lactoalbúmina [0.4g/100mL]) disminuye casi en un 50% en comparación con el calostro (9,11). También se observa una menor concentración de vitaminas A y C y de algunos minerales como calcio, sodio, potasio en comparación con la leche madura (Tabla 1) (10).

Finalmente se produce la **leche madura**, la cual se secreta en un promedio de 700-900 mL/día durante los 6 primeros meses para luego descender a 500 mL/día durante los 6 meses siguientes, su aporte energético es de 70 a 76 Kcal/ 100mL. La fracción proteica vuelve a disminuir aproximadamente en un 50% (caseína [0.25g/100mL] y la α -lactoalbúmina [0.26g/100mL]), mientras que el contenido lipídico incrementa ligeramente en comparación con la leche de transición (8, 9, 22). Mientras que los micronutrientes vuelven a disminuir a excepción del hierro que muestra un aumento manteniéndose en

concentraciones similares a las registradas en el calostro (80 y 70 mg/100mL respectivamente) (8).

Como se puede observar, la concentración de los componentes de los tres tipos de leche es variable, tal diferencia no sólo se debe a los requerimientos del lactante, sino que también influyen otros factores como los genéticos, la nutrición materna, hora del día, hasta las técnicas de extracción (9, 11, 14). A continuación, se muestra la composición de la leche humana, de los **macronutrientes**, **micronutrientes** y de algunas de las **hormonas que regulan la ingesta alimentaria**.

Tabla 1. Composición de la leche humana.

Post-parto (días)	15 días – 6 meses		1-7 (días)		7-15
	COMPONENTE	CALOSTRO	TRANSICIÓN	MADURA	
[g/100mL]					
*Lípidos		2.9	3.6	7.0	
*Hidratos de carbono		5.3	6.6	3.8	
*Proteínas totales		4.1	1.6	0.9	
Caseína		1.6	0.5	0.25	
α -lactoalbúmina		1.1	0.4	0.26	
*Vitamina A [μ g/100mL]		151	88	54	
*Vitamina C [mg/100mL]		5.9	5.5	4.4	
[mg/ 100mL]					
*Calcio (Ca)		40	39	31	
*Potasio (K)		74	64	53	
*Sodio (Na)		49	29	16	
*Hierro (Fe)		70	40	80	
Hormonas					
$\%$ Insulina [μ UI/mL]		24.5		12.5	
$\% \%$ Obestatina [ng/mL]		538.9		520.53	
$\% \% \%$ IGF-1 [ng/mL]		89.63		75.09	
*Contenido energético		67kcal	70kcal	76kcal	

*UNICEF, $\%$ Ley, *et. al.*, 2012, $\% \%$ Aydin, *et. al.*, 2008 y $\% \% \%$ Khodobuashky, *et. al.*, 2014.

5) Composición de la leche humana

Como se mencionó anteriormente, la LM es un líquido, de gran complejidad biológica, constituido por nutrimentos, componentes inmunológicas, hormonas como la “insulina y obestatina”. Estas hormonas y factores de crecimiento como el factor de crecimiento tipo insulina 1 (IGF-1), que le confieren propiedades nutricias, metabólicas e inmunológicas específicas que favorecen cada etapa del desarrollo neonatal y que también pueden influir en el metabolismo infantil (8, 11, 17).

a. *Macronutrimentos*

En general en los tres tipos de leche humana, la fracción **proteica** está compuestas por 30% de caseína y 70% de otras proteínas. Dentro de estas últimas se encuentra la α -lactoalbúmina, seroalbúmina, β -lactoglobulinas, inmunoglobulinas, glicoproteínas, lactoferrina, hormonas, etc. Siendo la α -lactoalbúmina y la lactoferrina las proteínas mayoritarias después de la caseína (9).

Los **lípidos** constituyen la mayor fracción energética de la leche aportan del 44 al 55% del total de la energía. Son considerados nutrimentos esenciales para el lactante, ya que son imprescindibles para el correcto desarrollo del organismo y particularmente del cerebro, retina, especialmente los ácidos grasos polinsaturados (32-33). El 98-99 % de los lípidos de la LM está compuesto por triglicéridos conformados por; ácidos grasos saturados ($39.0 \pm 5.62\%$), monoinsaturados ($45.8 \pm 4.62\%$) y poliinsaturados ($15.2 \pm 4.26\%$) en leche madura (9,24-26).

Finalmente, el principal **hidrato de carbono** presente en la leche humana es la lactosa que se sintetiza en la glándula mamaria a partir de glucosa. Aporta, junto con los lípidos, la energía necesaria para el crecimiento y desarrollo adecuado del neonato

favoreciendo la colonización de microbiota acidófila y promueve la absorción del calcio. También están presentes los oligosacáridos como la lactosa, lactosa-N-tetrosa, lactosa-neo-tetrosa y el trifucosillacto-N-hexosa que representan el tercer componente mayoritario de la leche tras la lactosa y la grasa (8-9).

b. Hormonas reguladoras de la ingesta alimenticia

La leche materna contiene hormonas que regulan la ingesta alimentaria por lo que pueden influir en la programación del balance energético en las etapas posteriores de la vida; dentro de estos compuestos bioactivos se encuentran la leptina, **insulina**, adiponectina, grelina, resistina, **obestatina** y el **factor de crecimiento insulina tipo 1 (IGF-1)** entre otras (11, 14).

La regulación de la ingesta de alimentos y de su utilización por el organismo es un proceso altamente complejo. Dentro de este contexto, la estimulación para ingerir alimentos y la percepción de saciedad se encuentran reguladas por señales periféricas a través de su acción en diversos núcleos hipotalámicos que resultan clave en el metabolismo energético y control del apetito, entre ellos el núcleo arcuato (ARC). Este núcleo contiene dos subtipos neuronales funcionalmente opuestos: un subtipo **orexigénico** (estimulante del apetito) que expresa el neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada a Agouti (AgRP) y un subtipo **anorexigénico** (supresor del apetito) que expresa el neuropéptido pro-opiomelanocortina (POMC) y al transcrito regulado por cocaína y anfetamina (CART) (11, 27).

En ambos procesos de regulación del apetito participan el sistema nervioso central (SNC), el tracto gastrointestinal (TGI) y el tejido adiposo blanco (TAB) (15) que secretan

numerosos péptidos con acciones sinérgicas o antagónicas que interactúan entre sí y con diferentes señales neuronales conduciendo la información hasta los núcleos hipotalámicos (27) (Figura 5).

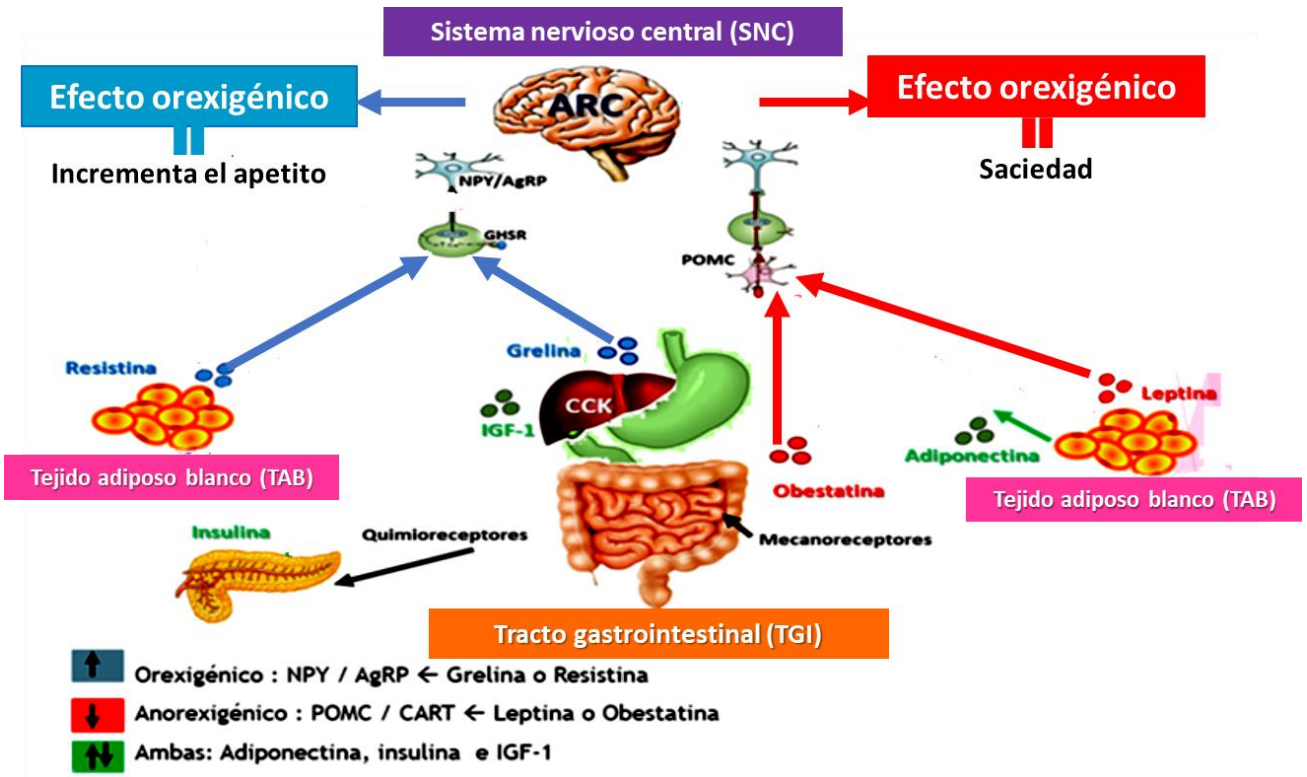


Figura 5. Regulación neuroendocrina del apetito. AgRP (proteína relacionada con Agouti), CART (péptido relacionado a la cocaína y anfetamina) (CCK (colecistoquinina), IGF-1 (Factor de crecimiento tipo insulina-1), NPY (Neuropéptido-Y), POMC (proopiomelanocortina). En azul se muestran las hormonas que estimulan el apetito tales como grelina y resistina, en rojo aquellas que inducen saciedad (leptina y obestatina) y en verde aquellas que pueden tener efecto orexigénico y anorético (adiponectina, insulina e IGF-1).

Aunque existe una gran cantidad de hormonas que participan en la regulación de la ingesta alimenticia, sólo se describen brevemente la acción de tres de las hormonas identificadas en la leche humana.

Insulina. Es una hormona pancreática de 51 aminoácidos, secretada por las células beta en los islotes de Langerhans. Está involucrada en el anabolismo de los carbohidratos, se libera bajo la influencia de varios estímulos, incluyendo la ingesta de proteínas y carbohidratos, aumenta rápidamente cuando se detectan concentraciones altas de glucosa en sangre, esto en proporción a la grasa corporal, es una hormona clave en la homeostasis de la glucosa (11,28).

La secreción de insulina hacia el torrente sanguíneo está relacionada con la cantidad de grasa corporal, respondiendo rápidamente a la ingesta alimentaria. La insulina se internaliza en el SNC por un proceso de transporte saturable mediado por receptores a través de las células endoteliales de los capilares cerebrales. Los receptores de la insulina están localizados en las mismas áreas hipotalámicas claves que los receptores de la leptina, la insulina administrada directamente en el SNC reduce la ingestión de alimentos y el peso corporal de una manera dependiente de la dosis (27).

La unión de insulina a su receptor en el SNC produce la autofosforilación de su receptor que desencadena varias vías que conducen a la fosforilación del factor de transcripción FOXO, regulando la transcripción de neurotransmisores, favoreciendo la expresión de POMC e inhibiendo la expresión de AgRP (26), por lo que puede desencadenar un efecto anorexigénico u orexigénico.

La identificación de la insulina en la leche humana fue descrita desde hace más de tres décadas por Jovanovic-Peterson et al., 1989 (29). A pesar de que la presencia de insulina en la leche humana se describió desde hace varios años, aún no se ha determinado su función de forma concluyente (17). No obstante, se ha propuesto su participación en el peso del recién nacido ya que se han asociado concentraciones

elevadas de esta hormona en la LM con el bajo peso de los lactantes y con la disminución de la masa magra (11).

Obestatina. Es una hormona que tiene 23 aminoácidos y antagoniza la acción de la grelina, que se sintetiza principalmente en el estómago y en el tracto gastrointestinal (30). En el procesamiento postraduccional de la pro-hormona de la cual deriva la grelina, se genera este péptido, cuyas funciones incluyen la inhibición del peristaltismo en la segunda porción del intestino delgado, la disminución en la ganancia de peso corporal a través de un receptor distinto al de la Grelina e induce la saciedad (31).

Esta hormona también se ha identificado en LM, reportándose, que la concentración de ésta es mayor en el calostro y en la leche madura que en circulación de mujeres normo-peso. La mayor concentración de obestatina en la leche respecto a la encontrada en circulación podría deberse en parte a que el tejido mamario tiene un papel en la síntesis de esta hormona, tal y como sucede con otras hormonas como la leptina, grelina y adiponectina (9,17). Sin embargo, se desconoce el papel de la obestatina en la leche materna, pero se ha propuesto que, debido a su efecto inhibidor del apetito, podría proteger al neonato contra la obesidad (11).

IGF-1. Este factor de 70 aminoácidos es sintetizado en casi todos los tejidos del cuerpo, aunque con una mayor expresión y secreción en el hígado e interviene en la regulación del crecimiento postnatal. La síntesis y secreción de IGF-1 dependen principalmente de la hormona de crecimiento y la disponibilidad de nutrientes, por ejemplo, disminuye en la inanición, carencia de proteínas y en la malnutrición, mientras que la restauración de su secreción depende de la ingesta de proteínas (32).

El IGF-1 participa en el control del crecimiento celular en múltiples tejidos y órganos, es un potente mitógeno y también regula otros procesos anabólicos, como la estimulación del transporte de aminoácidos y la síntesis de proteínas. Aunque inicialmente Beckett *et. al.*, 1998 propusieron que esta hormona regula de forma indirecta la ingesta alimenticia al participar en la regulación a largo plazo y en la termogénesis adaptativa (33), hasta el momento no se ha esclarecido el papel que esta hormona juega en la regulación alimenticia ya que de acuerdo con Stanlel *et. al.*, (2014), no siempre se observa alterada su concentración en pacientes con obesidad. A pesar de esta controversia, a IGF-1 se le ha considerado como un marcador del estado nutricional, ya que su concentración disminuye notablemente con la restricción calórica y durante la desnutrición crónica y aumenta con la sobrealimentación (32).

IGF-1 se secreta en la LM, presentándose en mayor concentración en el calostro que en la leche madura. Esto sugiere la presencia indispensable de esta hormona en la leche, en cantidades adecuadas que permitan un óptimo desarrollo del lactante (11) No obstante, se desconoce si la glándula mamaria está involucrada en su síntesis y secreción.

ANTECEDENTES

a. Lactancia y Obesidad

A nivel mundial, la prevalencia de sobrepeso y obesidad se ha elevado de manera alarmante (34). Estas tasas tan altas también han aumentado en mujeres embarazadas poniendo en riesgo la salud del binomio durante la gestación. En nuestro país, la prevalencia de obesidad en el embarazo oscila entre el 22 y el 25%, mientras que entre el 25-33.2% padecen sobrepeso (ENSANUT, 2018). Ciertamente, la morbilidad perinatal relacionada con la obesidad no termina con el nacimiento, continúa afectando el binomio madre-lactante. A pesar de estas alteraciones, se han realizado pocos estudios enfocados a conocer la composición de los diferentes tipos de leche materna en mujeres con sobrepeso u obesidad durante la lactancia (35-36).

El conocer los componentes de la leche humana en estas mujeres es de vital importancia ya que modelos experimentales y estudios epidemiológicos sugieren que la nutrición temprana podría ser un factor clave para el desarrollo de obesidad en la vida adulta, apoyando el concepto de programación nutricional (17,36)

Existe información aislada referente a algunos de los componentes ya sea macronutrientes o sólo a las hormonas reguladoras de la ingesta alimentaria como la insulina en sólo una o dos etapas de la lactancia, específicamente en mujeres lactantes con sobrepeso u obesidad, no existen estudios en los que se relaciona la concentración de la insulina, leptina e IGF-1 de la leche materna y la adiposidad. Es decir que no existen estudios en los que se evalúen todos esos componentes de manera integral durante la lactancia en mujeres con diferente estado nutricional. A continuación, se describen los hallazgos de dichos componentes, así como el impacto reportado en la salud del lactante.

b. Macronutrientos

Se ha relacionado a la obesidad materna con una disminución en el volumen de la producción láctea y un incremento en la concentración de los macronutrientes (entre el 4-10%) de la leche (35). Es importante considerar que, de acuerdo con la evidencia científica, las madres que producen menores cantidades de leche tienden a presentar concentraciones altas de lípidos y lactosa. Sin embargo, las concentraciones de proteínas aparentemente no varían. Adicionalmente se ha estimado que, la concentración de macronutrientes de la leche humana muestra una mayor relación a los 4 meses postparto con: el peso corporal materno, la ingesta de proteínas, la paridad y el retorno de la menstruación (37).

(1) Lípidos.

Existe evidencia científica que sugiere que el estado nutricional materno puede influir en el contenido lipídico de la LM. Dentro de los primeros estudios que analizaron el contenido nutricional de la LM de una población mexicana se encuentra el de Barbosa *et al.*, 1997, quienes analizaron leche madura proveniente de 21 mujeres otomíes con diferentes IMC. Los autores reportaron una correlación positiva entre la concentración de grasa de la leche con la grasa corporal materna a los 3 y 6 meses ($r = 0.32$ y 0.40 ; $p = 0.04$ y 0.01 respectivamente) (38).

Existen otros estudios que sólo incluyen el análisis de un solo tipo de leche, como el de Fujimori y colaboradores del 2015, quienes analizaron 68 muestras de calostro provenientes de mujeres con diferente IMC. Reportando que la concentración de triglicéridos del calostro es más alta en mujeres con sobrepeso/obesidad en comparación con mujeres normo-peso, mostrando una diferencia entre grupos ($F = 10.59$; $p = 0.008$). Adicionalmente indicaron que la concentración de colesterol también fue más alta en el

calostro de mujeres con obesidad [5.2 (2.9 - 8.2 mmol/L)], observando diferencia significativa entre grupos ($F= 5.05$; $p= 0.010$) (39).

De igual forma, Jans *et al.*, en el 2018 cuantificaron la concentración de grasa en muestras de calostro provenientes de 24 mujeres con normo-peso y 51 mujeres con sobrepeso/obesidad. Los hallazgos de este estudio muestran que, el contenido lipídico del calostro es mayor en las mujeres con obesidad [23 ± 9 g/L] que en mujeres normo-peso (diferencia media 3.00 [-1.95, 7.95] CI:95%); por lo que, el contenido de grasa de la LM se correlacionó positivamente con el IMC materno (40).

Finalmente, un estudio que sí incluyó los tres tipos de LM es el de Dritsakou y su equipo del 2016, en el que se analizaron 210 muestras de calostro, 210 leche de transición y 210 leche madura. Los autores reportaron que la concentración de grasa aumenta del calostro a la leche madura el día 30 postparto ($p < 0.001$). Adicionalmente, reportaron que la concentración de grasa fue mayor en el calostro (diferencia media 6.00 [3.42, 8.58] CI:95% entre grupos) y en la leche madura proveniente de mujeres con sobrepeso/obesidad (diferencia media 3.00 [-0.12, 6.12] CI:95% entre grupos) en comparación con la LM proveniente de mujeres normo-peso (41).

La evidencia presentada muestra que el estado nutricional materno, específicamente el IMC influye en la concentración de lípidos presentes en la LM. Sin embargo, cabe destacar que sólo el trabajo de Barbosa y colaboradores mostró que hay correlación de los lípidos de la LM con el porcentaje de masa grasa materna.

(2) *Proteínas.*

En cuanto a la concentración de proteínas de la LM, la información publicada es aún controversial ya que algunos autores no han encontrado diferencia entre la LM proveniente de mujeres con diferente estado de nutrición. Tal es el caso de Fujimori *et. al.*, 2015 quienes compararon la concentración proteica en muestras de calostro de 25 mujeres normo-peso [101.0 (91.0 - 115.0 g/L)], 24 con sobrepeso [89.0(76.0 - 127.0 g/L)] y 19 con obesidad [86.0(61.0 - 157.0 g/L)], no encontrando diferencia entre grupos $F = 0.25$; $p = 0.785$ (39).

Mientras que algunos otros autores sí han reportado asociación entre el estado nutricional materno y la concentración de proteínas de la LM, como Gridneva en el 2018, quienes estudiaron 20 diadas (madre-lactante) durante 12 meses. Los autores observaron que el peso corporal materno ($r = 0.26$ $p = 0.031$), la masa magra de la madre ($r = 0.399$ $p = 0.034$) y el índice de masa magra ($r = 0.433$ $p = 0.033$), se asociaron positivamente con una mayor concentración de proteína totales de la LM. Sin embargo, no se encontró asociación entre la concentración de proteínas totales y caseína de la LM con la antropometría infantil (42).

Por su parte, Bzikowska-Jura y colaboradores en el 2018, analizaron la asociación entre la composición corporal materna y la composición de la LM obtenida en el primer ($n = 40$), tercer ($n = 22$) y sexto ($n = 15$) mes de lactancia. Los resultados de este estudio muestran que, en el tercer mes posparto, existe una correlación significativa entre el % de masa grasa ($r = 0.60$; $p = 0.003$), masa magra ($r = 0.63$; $p = 0.001$) y masa muscular ($r = 0.47$; $p = 0.027$) y la concentración de proteínas totales. Adicionalmente identificaron que

la concentración de proteína total presenta una tendencia a disminuir desde el mes 1 [$1.2 \pm 0.2\text{g}/100\text{mL}$] al sexto mes [$1.0 \pm 0.3\text{g}/100\text{mL}$] (*Kendall's tau-b* = -0.31 ; $p = 0.001$) (43). Comportamiento similar al reportado por Aleali y su equipo en el 2018, quienes analizaron la leche proveniente de 51 mujeres lactando de 27 (5 ± 5.6) años con un IMC ($26.44 \pm 17.54\text{kg}/\text{m}^2$). Observando que el contenido proteico disminuyó desde la primera semana hasta la cuarta semana después del parto. Para la semana 1 se registró una concentración de $2.09 \pm 0.11\text{ g/L}$ y finalmente en la semana 4 se reportó una concentración de $1.73 \pm 0.04\text{ g/L}$ mostrando un valor $p \leq 0.001$ (44). Los estudios indican que el contenido de proteínas totales de la LM sí está relacionado con la composición corporal materna, principalmente con el peso y el % de masa magra.

(3) Hidratos de Carbono

En cuanto a la concentración de hidratos de carbono presentes en la LM aún no se ha comprobado de forma concluyente si el estado nutricional materno puede afectarla. La mayoría de los trabajos indican que no hay asociación con el IMC. Por ejemplo, el estudio de Mangel y su equipo, en el 2017 estudiaron el efecto de los hábitos alimenticios sobre el contenido de hidratos de carbono presente en 109 muestras de calostro provenientes de mujeres sanas, las cuales fueron agrupadas de acuerdo a su IMC pregestacional: 12 con bajo peso [$6.26 \pm 1.10\text{ g}/100\text{mL}$], 59 con normo-peso [$6.08 \pm 0.74\text{ g}/100\text{mL}$], 20 con sobrepeso [$5.81 \pm 1.10\text{ g}/100\text{mL}$] y 18 mujeres con obesidad [$6.18 \pm 0.61\text{ g}/100\text{mL}$], no encontrando diferencias significativas entre grupos. Sin embargo, se encontró correlación positiva entre la concentración de carbohidratos del calostro con la paridad $r = 0.243$; $p = 0.033$ (45).

Por otra parte, Bzikowska-Jura y su equipo en el 2018, tampoco reportaron correlaciones significativas entre la concentración de hidratos de carbono y la composición corporal de mujeres lactando al primer, tercer y sexto mes post-parto. De igual forma, no se encontraron diferencias significativas en la concentración de hidratos de carbono durante los primeros seis meses de lactancia (43).

Lo anterior sugiere que ni el estado nutricional materno, ni la composición materna influye directamente sobre el contenido de hidratos de carbono de la LM, sin embargo, ambos autores indican que el tamaño de la muestra y la conservación de las muestras podrían ser factores que influyen en los resultados.

Hormonas reguladoras de la ingesta alimentaria.

La inmadurez de la barrera intestinal del neonato permite la absorción y la acción de varias hormonas de la LM que intervienen en la regulación del apetito, sobre todo de aquellas que tienen bajo peso molecular, y como resultado estas hormonas podrían influir metabólicamente en el lactante (46-47). Con base en esta evidencia es importante considerar que, si se modifica la concentración de las hormonas orexigénicas y anorexigénicas se podría presentar predisposición en el infante para desarrollar alteraciones metabólicas como la obesidad en etapas posteriores (11, 36-37). Esta propuesta se debe a que en la descendencia de madres obesas existe un riesgo incrementado de padecer sobrepeso, además de la intolerancia a la glucosa principalmente a través de mecanismos epigenéticos involucrados en la susceptibilidad y el desarrollo de la obesidad (12).

Insulina

Se ha sugerido que las elevadas concentraciones de glucosa e ***insulina*** a las que se expone el feto durante la gestación o durante la lactancia en caso de que la LM consumida por el lactante presente concentraciones altas de glucosa e insulina, podrían programarlo para desarrollar resistencia a la insulina y alguna otra alteración metabólica. Estos supuestos surgen de algunas investigaciones como la de Ahuja y colaboradores en 2011, quienes encontraron que la concentración de insulina de la LM madura extraída de mujeres con obesidad es aproximadamente 7 veces mayor ($30.11 \pm 56.3 \mu\text{IU/mL}$), respecto a la concentración de insulina de la LM de mujeres normo-peso ($4.5 \pm 7.6 \mu\text{IU/mL}$, $p=0.05$) (48).

De igual forma, Young BE y colaboradores en el 2017, determinaron la concentración de insulina en la LM durante los primeros 4 meses postparto en 48 mujeres con diferente IMC, reportando que las concentraciones de insulina de la LM fueron más elevadas en mujeres con sobrepeso y obesidad ($p < 0.05$). Además, los autores reportan una correlación positiva entre el IMC materno y la concentración de insulina secretada en leche a las 2 semanas y los 4 meses respectivamente ($p = 0.02$, $r^2 = 0.12$ y $p = 0.03$, $r^2 = 0.12$) (49).

Por lo que, es importante dilucidar, el posible efecto de las altas concentraciones de insulina sobre el crecimiento infantil, ya que existe evidencia científica que demuestra que la concentración de insulina de la LM puede afectar la composición corporal infantil, tal y como lo reportan Fields y colaboradores en 2012. Los autores estudiaron 19 diadas de madre-hijo, los lactantes fueron alimentados exclusivamente con LM durante 6 meses, encontrando una asociación negativa entre la concentración de insulina presente en LM

con el peso del lactante a los 6 meses ($r = -0.49$, $p = 0.06$) y con la masa magra ($r = -0.53$, $p = 0.03$) indicando que esta hormona influye en el desarrollo del lactante (50). No obstante, existen trabajos recientes como el de Cheema *et.al.*, 2021, en los que no se encontró asociación entre la insulina de la LM y la antropometría infantil a los 3 meses de vida (51).

Por otro lado, hasta el momento no se ha comprobado si la adiposidad materna se correlaciona de forma directa con la concentración de insulina secretada en la LM. Sería importante identificar si el contenido de esta hormona varía de acuerdo a la adiposidad materna en los tres tipos de LM; porque en caso de presentar concentraciones de insulina elevadas, éstas podrían influir de forma negativa en el lactante. El aporte exógeno de insulina elevado sólo se requiere en los primeros días de vida, mientras se logra estabilizar la producción de insulina en el páncreas del neonato. Si el aporte de insulina se mantiene alta, la carga sería muy elevada y podría predisponer al desarrollo de resistencia a la insulina y desencadenar obesidad.

1) Obestatina

La obestatina es una de las hormonas con efecto anorexigénico presente en la LM, sin embargo, aún hay poca información referente a esta hormona y a su efecto sobre el infante. Aydin *et.,al.*, en el 2008 reportaron por primera vez su presencia en 31 muestras de calostro [538.9 pg/mL] y en 31 muestras de leche madura [528.5 pg/mL]. Además, reportaron que la concentración en la LM [289.4 pg/mL] es mayor en comparación con la concentración de obestatina sanguínea correspondiente [270.3 pg/mL] y, lo cual sugiere que la glándula mamaria podría jugar un papel importante en la síntesis de esta hormona (52). En contraste, Savino y colaboradores en el 2012, al determinar la concentración de

grelina y obestatina sérica y de la LM en 16 mujeres lactando, y de obestatina sérica de sus infantes; no encontraron diferencias significativas entre la obestatina sérica materna [759.105 (855.55) pg/mL] (mediana (IR rango intercuartílico) y la secretada en la LM [846.6 (472.07) pg/mL]. Tampoco identificaron diferencias significativas entre la obestatina sérica de los lactantes [844.87 (805.14) pg/mL] y la obestatina sérica materna [759.105 (855.55) pg/mL] (53).

La información con la que se cuenta aún es controversial y no se ha identificado si la concentración de obestatina de la LM se correlaciona con la adiposidad materna. Sin embargo, se ha sugerido que la LM de las madres con mayor adiposidad presenta una menor concentración de obestatina ocasionando que no sea suficiente el suministro exógeno para el lactante e impidiendo que cumpla su función anorexigénica. Por lo que, hacen falta estudios si se pretende dilucidar de forma concluyente el efecto de la obestatina sobre el crecimiento del lactante.

2) IGF-1

Dentro de los factores de crecimiento secretados en la LM, se encuentra el IGF-1 del cual aún no hay información concluyente que muestre su efecto sobre el metabolismo del neonato y si el estado nutricional materno puede influir directamente sobre su secreción en la LM. Existen pocos estudios de IGF-1 en la leche materna, como el descrito por Milsom y colaboradores en el 2008. Los autores evaluaron los cambios en la concentración de IGF-1 en 23 muestras de calostro, leche de transición y leche madura. Los resultados de este estudio muestran que la concentración de IGF-1 tuvo una disminución moderada durante los primeros 3 meses posparto y a partir del mes 4 y hasta el mes 9 la cantidad de esta hormona se mantuvo estable (54).

Posteriormente, Khodabakhshi y colaboradores en el 2015, analizaron 40 díadas (madre-hijo) con lactantes con sobrepeso u obesos (percentil de peso para la talla >97) y 40 díadas con infantes normopeso (percentil de peso para la talla <85) que tenían entre 2 y 5 meses, con el objetivo de investigar las diferencias en la concentración de IGF-1 secretado en la LM, no reportando diferencias significativas en las concentraciones de IGF-1 entre el grupo de lactantes con sobrepeso y el grupo de lactantes normo-peso (55).

En contraste, Kon IY y colaboradores en el 2014, analizaron los posibles vínculos entre la velocidad de crecimiento de los lactantes y las concentraciones de IGF-1 proveniente de la LM en 103 diadas (madre-hijo), dividiendo a los lactantes en tres subgrupos de terciles de baja, normal y alta ganancia de peso. Se encontró que la LM consumida por los lactantes con alta ganancia de peso contenía concentraciones más altas de IGF-1 que la consumida por aquellos con baja ganancia de peso ($p = 0.032$ a los 3 meses de lactancia). Adicionalmente se observó una correlación positiva entre la concentración de IGF-1 de la LM y el aumento de peso del lactante a los 3 meses ($r = 0.294$, $p = 0.043$) (56).

Finalmente, Guler y colaboradores en el 2021, encontraron asociación positiva ($r = 0.206$, $p = 0.039$) entre el IGF-1 secretado en la LM con el IMC pregestacional materno (57). Lo anteriormente mencionado, deja en evidencia que la información aún es inconsistente y no se ha comprobado de forma concluyente, si el estado nutricional materno influye en la secreción de estas hormonas en la LM, ni se ha determinado de forma concluyente el efecto que pueden tener la insulina, obestatina y el IGF-1 en los lactantes desconociendo si actúan de forma **sinérgica** influyendo en la programación nutricional del infante.

JUSTIFICACIÓN

Las organizaciones internacionales y actualmente la Secretaría de Salud de México han propuesto a la lactancia como tema principal de Salud enfatizando que la LM es el mejor alimento para el lactante hasta el primer año de vida, por lo que, se han puesto en marcha diversas campañas para incrementar la lactancia materna.

Actualmente, la obesidad se considera una enfermedad metabólica crónica que se asocia al desarrollo de comorbilidades como el síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y dislipidemias y riesgo cardiovascular incrementado. Es decir que esta condición puede desencadenar o agravar otras enfermedades metabólicas reduciendo las expectativas de vida del individuo. Considerando que México es uno de los países con mayor porcentaje de obesidad ocupando el 5º lugar a nivel mundial con 21 millones de mujeres que padecen obesidad con un 41% de prevalencia (ENSANUT 2018), y que una gran parte de la población femenina en edad reproductiva presenta obesidad o sobrepeso, es posible que la composición de la leche producida por estas mujeres refleje su estado nutricional y podría predisponer al recién nacido a desarrollar alteraciones metabólicas incluyendo obesidad en su vida adulta (11).

Sin embargo, la mayoría de los estudios que analizan el contenido nutricional de la LM incluyen principalmente a mujeres normo-peso, o a mujeres que presentan sobrepeso u obesidad sin considerar ambos estados nutricionales. Así que, este estudio está enfocado a presentar evidencia científica de la composición de la leche en cuanto a la concentración de insulina, leptina e IGF-1 las cuales están involucradas en la regulación de la ingesta alimentaria en diferentes tipos de leche de mujeres con sobrepeso u obesidad en comparación a la leche de mujeres normo-peso. Esta información podría ser la base para

proponer estrategias con la finalidad de mejorar la composición de la leche de mujeres con estos padecimientos en caso de que su contenido de insulina, obestatina e IGF-1 no sea el adecuado. Tales estrategias podrían ser la suplementación de algún nutrimento específico que mejore el estado nutricional materno.

Con estos antecedentes, el **planteamiento del problema** lo definimos con la siguiente pregunta de investigación:

¿La concentración de insulina, obestatina e IGF-1 del calostro, la leche de transición y de la leche madura de mujeres con sobrepeso u obesidad es diferente a la de mujeres con peso normal?

HIPOTESIS

La concentración de obestatina con efecto anorexigénico será menor, mientras que la concentración de insulina e IGF-1 será mayor en el calostro, la leche de transición y la leche madura de mujeres con adiposidad saludable y no saludable. Las células epiteliales mamarias (lactocitos) expresarán el mRNA de IGF-1.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar en la leche materna la concentración de hormonas reguladoras de la ingesta alimentaria como la insulina, obestatina e IGF-1 en mujeres con adiposidad no saludable durante la lactancia y comparar dicho contenido con la LM de mujeres con adiposidad saludable.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- a) Comparar la concentración de insulina, obestatina, e IGF-1 en el calostro, leche de transición y leche madura de mujeres con adiposidad saludable y adiposidad no saludable.
- b) Identificar si existe una correlación entre la concentración de insulina, obestatina e IGF-1 circulantes y las secretadas en los diferentes tipos de leche de mujeres con adiposidad saludable y adiposidad no saludable
- c) Determinar si existe correlación entre la concentración de insulina, obestatina e IGF-1 circulante y la secretada en la leche materna con la adiposidad materna.
- d) Determinar si en los lactocitos se expresa el RNAm del gen que codifica para IGF-1.

METODOLOGÍA

Este proyecto de investigación fue aprobado por la Comisión Nacional de Investigación Científica del Instituto Mexicano del Seguro Social con el número de registro R-2015-785-046 y de acuerdo con la Ley General de Salud, fue considerado como riesgo mínimo para las participantes. Las participantes recibieron como beneficios por participar en el estudio: 1) diagnóstico nutricio materno-infantil durante el primer mes y dependiendo del estado nutricio de la madre se le brindó asesoría; 2) análisis de parámetros bioquímicos (glucosa, colesterol y triglicéridos) en cada una de las visitas.

A) DISEÑO: Prospectivo, longitudinal y comparativo.

B) LUGAR DE ESTUDIO: La cuantificación de insulina, obestatina, IGF-1 y las pruebas de expresión génica se realizaron en la Unidad de Investigación Médica en Nutrición, localizada en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (CMNSXXI-IMSS).

C) POBLACIÓN DE ESTUDIO: En este estudio se incluyeron mujeres clínicamente sanas que iniciaron la lactancia y cuyo control del embarazo se llevó en las Unidades de Medicina Familiar No. 4 y No. 10 del IMSS.

D) CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO

1. Inclusión

Mujeres primigestas entre 18 y 35 años de edad que presentaron un embarazo normo-evolutivo, a término (≥ 37 semanas de gestación) con producto único cuyo peso

al nacimiento fue mayor a 2.5 Kg. Se seleccionaron mujeres que alimentaron a su hijo al seno materno de manera exclusiva durante los tres primeros meses posparto. Sin antecedentes de tabaquismo, alcoholismo y drogas durante el embarazo y/o la lactancia. Antes de cualquier procedimiento, las participantes firmaron la carta de consentimiento (**Anexo 2**).

2. Eliminación

Mujeres que, durante el periodo de lactancia, presentaron algún padecimiento, retiro del consentimiento informado o que iniciaron con lactancia mixta.

E) TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se obtuvo, utilizando el valor de la media y de la desviación estándar obtenido por Ahuja S y col (2011). Para calcular el tamaño de la muestra se utilizó la ecuación de diferencia de medias, utilizando la concentración de insulina en leche humana reportada previamente.

Donde:

n : Tamaño de la muestra

$Z\alpha$: Valor de Z para $\alpha = 0.05$

$Z\beta$: Valor más bajo de Z para $\beta = 0.20$

$\delta = DE = 56.3$

$\Delta =$ diferencia de medias = 25.6

$$N = \frac{\delta^2 (Z_\alpha + Z_\beta)^2}{\Delta^2} = \frac{(56.3)^2 (1.96 + 0.84)^2}{(25.6)^2} = \frac{(3169.69)(7.84)}{655.36} = \frac{24850.37}{655.36}$$

$N = 37.9 = 38$ sujetos por grupo

Sin embargo, considerando que durante el desarrollo del proyecto podían ocurrir el 20% (~8 pacientes) de pérdidas de seguimiento y de abandono, entonces se estimó que el tamaño de muestra de $N = 46$ (38 del cálculo del tamaño de muestra + 8 por pérdidas) sujetos por grupo.

F) GRUPOS DE ESTUDIO

Los grupos de estudio se clasificaron de acuerdo con el estado de nutrición materno utilizando el criterio propuesto por Lohman 1992. %MG = porcentaje de masa grasa (bioimpedancia eléctrica "BIA").

a) Grupo con "adiposidad saludable". Mujeres con %MG < 32%.

b) Grupo con "adiposidad no saludable". Mujeres con %MG >32%.

G) TRABAJO DE CAMPO.

Se impartieron **Pláticas y Talleres informativos** a mujeres embarazadas derechohabientes del IMSS en las UMF (Unidad de Medicina Familiar) 4 y 10 para seleccionar a las participantes. En dichos talleres se explicaron los siguientes temas: beneficios de la lactancia materna, técnicas de extracción de leche y elaboración del banco de leche (extracción, etiquetado, almacenamiento "congelación y refrigeración", etc.) y al finalizar se les invito a participar en la investigación.

Se realizó la selección de las mujeres que cumplían con los criterios de inclusión, a las cuales a partir de la semana 35 de gestación, se les hizo un seguimiento semanal vía telefónica hasta el momento del parto. En cuanto se registró el nacimiento de los lactantes,

se programaron tres visitas domiciliarias entre los días 5-7, 10-14 y el día 30 después del parto, para obtener los tres tipos de leche (calostro, transición y madura).

1. Registro de las mediciones antropométricas de las madres.

Se obtuvieron las medidas de peso corporal y talla que presentaban al inicio del embarazo o durante el primer mes de embarazo; estos datos fueron obtenidos del expediente médico de cada paciente, para calcular el IMC (kg/m^2) y conocer su estado nutricional antes de la gestación. Posteriormente, durante las tres visitas programadas se tomaron las medidas de talla (Estadiómetro SECA) y se evaluó la composición corporal total mediante análisis de impedancia bioeléctrica (BIA) utilizando la Tanita FitScan Body Composition (BC-585F; IL, U. S. A.), este equipo también se utilizó para medir el peso corporal con una sensibilidad de 0.1 kg. Es importante considerar que la Tanita es un dispositivo de frecuencia única (50Khz) que realiza el análisis de bioimpedancia colocando electrodos en las extremidades. El software que utiliza el equipo requirió que el operador preprogramara el sexo, la edad y la altura de la participante. Posteriormente, con los valores del peso corporal y la impedancia calculadas por el equipo se determinó el porcentaje de grasa corporal total basado utilizando la siguiente ecuación, para las mujeres se estima la masa libre de grasa (FFM) como:

$$\text{FFM (kg)} = 13.96674 + 0.348613 \times \text{Ht}^2/\text{Z} + 0.168998 \times \text{Peso}$$

Donde Wt es peso (kg), Ht es altura (m) y Z es impedancia (Ω)

$$\% \text{ grasa: } (\text{Peso} - \text{FFM}) / \text{Peso} \times 100$$

2. Registro de las mediciones antropométricas del neonato.

Se registraron por triplicado las medidas de peso corporal y longitud (Pesabebés electrónico portátil SECA 334 y estadímetro SECA 232, Hamburgo Alemania) de cada neonato en las tres visitas programadas, estas mediciones fueron realizadas por nutriólogos estandarizados en antropometría infantil. Mientras que los valores de longitud y peso al nacimiento fueron tomados del expediente médico y se confirmó que coincidiera con el reportado por los padres en la primera visita. Sin embargo, para conocer el estado nutricional de los infantes fue necesario considerar las relaciones “Peso para la Longitud” y “Peso para la edad”, los cuales se expresaron en percentiles 15, 50 y 85, siendo el más adecuado el percentil 50. El estado de nutrición de los lactantes se realizó utilizando los gráficos de percentiles propuestos por la OMS, los cuales permiten valorar el desarrollo y crecimiento infantil teniendo en cuenta a otros niños de la misma edad y sexo.

3. Obtención de muestras de sangre periférica y leche materna

En cada visita, a las participantes se les tomó una muestra de sangre periférica por venipuntura en ayuno de entre 8 y 10 horas. Para la cuantificación de la insulina, obestatina e IGF-1 y la determinación de la glucosa, se tomó una muestra de aproximadamente 5 mL, en un tubo con gel separador (gel inerte con partículas de sílice), la cual se transportó a temperatura ambiente. Adicionalmente, se tomó otra muestra de 3 mL para la determinación de triglicéridos y colesterol la cual se transportó en cámara de hielo.

También, se obtuvieron las muestras de leche (calostro, leche de transición y leche madura). La extracción de leche se llevó a cabo de forma simultánea en ambos pechos hasta su vaciamiento mediante una bomba eléctrica grado hospitalario Lactina Select

Medela (016SC01, Haryana, India). Durante la extracción, se realizaron masajes circulares y de barrido. La leche se recibió en biberones de vidrio esterilizados, donde se homogeneizó y se tomaron 2 muestras; la primera de 5 mL que fue almacenada en un tubo falcon al que previamente se le adicionaron 5 μ L de inhibidor de proteasas (Complete Protease Inhibitor Cocktail de ROCHE Mannheim, Germany) y la segunda de 2 mL que se almacenó en tubos cónicos (Falcon) estériles libres de RNAsas. Ambas muestras se mantuvieron en una cámara de hielo, para ser trasladadas al laboratorio para su análisis.

H) TRABAJO DE LABORATORIO

Para la separación del suero sanguíneo, las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3500 rpm, durante 15 minutos a una temperatura de 4°C, mientras que las muestras de leche se centrifugaron a 13000 rpm, durante 10 minutos a una temperatura de 4°C, para la obtención de suero de leche. Ambas muestras se alicuataron en volúmenes de aproximadamente 400 μ L que fueron almacenados en tubos Eppendorf a una temperatura de -70°C para su posterior procesamiento.

4. Cuantificación de insulina, obestatina e IGF-1.

A partir del suero (insulina e IGF-1) o el plasma (obestatina) sanguíneo y del suero de la leche, se realizó la cuantificación de las hormonas mediante kits comerciales. Específicamente para insulina se utilizó el kit Human Insulin ELISA (RAB0327: Sigma-Aldrich, USA), cuya sensibilidad por ensayo es de 4 μ IU/mL, el CV intra-ensayo es <10% mientras que el CV inter-ensayo es <12%. Para el factor de crecimiento se utilizó el kit

ELISA de IGF-1 human (RAB0228; Sigma-Aldrich, USA) cuya sensibilidad es de 100 pg/mL, el CV intra-ensayo es <10% mientras que el CV inter-ensayo es <12% y para obestatina kit de inmunoensayo enzimático (EIA) obestatin human (SPI BIO, Bertin-Pharma, Francia) cuya sensibilidad es de 62.5 pg/mL, el CV intra-ensayo es 6.9% mientras que el CV inter-ensayo es 16%.

Las pruebas se realizaron de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes, en placas de micro titulación de 96 pocillos recubiertas con los anticuerpos de captura específicos. Particularmente, para los ensayos de insulina e IGF-1 se añadieron 100 μ L de cada estándar y de la muestra a los pocillos, incubándose toda la noche a una temperatura de 4°C con agitación suave agregando el anticuerpo primario. Posteriormente, se hicieron lavados para eliminar los excesos y se agregó el anticuerpo de detección biotinilado, incubando durante una hora a temperatura ambiente (TA) con agitación suave. Después, se realizaron nuevamente 4 lavados y se añadió la Streptoavidina-HRP y se incubó 45 minutos a TA, después se agregó el sustrato de la HRP y se incubó durante 30 minutos, para finalmente adicionar la solución de paro.

La absorbancia se midió en un espectrofotómetro de microplacas Epoch 2 (BioTek, EE. UU.), IGF-1 y la insulina se midieron a 414 nm y la obestatina se midió a 450 nm. Finalmente, se empleó el software MasterPlex 2010 ver. 5.0.0.77 (Hitachi, Software Engineering America) para generar curvas estándar y calcular las concentraciones hormonales de cada muestra.

Extracción de RNA

Considerando que diversos autores, han demostrado la utilidad del RNA obtenido de los glóbulos de grasa de la leche materna para detectar la expresión génica específica de las células epiteliales mamarias (lactocitos) al ser una técnica no invasiva. Se procedió a separar la capa de grasa mediante centrifugación a 4°C y 13000 rpm durante 15 min a partir de 5 mL de leche materna.

A continuación, se extrajo el RNA total utilizando el método de *Maningat* y *Chomczynski (TRIzol)* modificado. A las muestras se les agregó 1 mL de TRIzol y se homogenizaron, posteriormente, se centrifugó a 15000 rpm por 15 minutos a 4°C, después de esto, la fase media se transfirió a otro microtubo y se agregaron 200 µL de cloroformo y se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min a 4°C. Inmediatamente, a la fase acuosa se le agregaron 500 µL de isopropanol para precipitar la muestra, almacenando durante 24 horas a -72°C y posteriormente se centrifugaron eliminando el sobrenadante. Al pellet se le agregó 1 mL de etanol, y se centrifugó a 7500 rpm por 5 minutos a 4°C. Por último, se quitó el sobrenadante para dejar secar el botón durante 5 minutos y se resuspendió con 20 µL de agua libre de RNAsas.

5. Integridad, cuantificación y pureza del RNA total

La integridad del RNA total se verificó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1%. La visualización del RNA se realizó mediante luz UV con un transiluminador (*Multimage™ Light Cabinet*), como agente intercalante se utilizó bromuro de etidio. Es importante considerar que para complementar el análisis acerca de la calidad del RNA fue

necesario cuantificarlo por espectrofotometría (*Nanodrop ND-100, Thermo Scientific*) y verificar el coeficiente 260/280nm, que indica el grado de pureza de la muestra.

6. Síntesis de cDNA

Para sintetizar el cDNA se utilizaron 2 µg del RNA total. El cual se homogeneizó con los componentes del kit *TaqMan Reverse Transcription Reagents*: 5µL de RT buffer (1X), 11µL MgCl₂ (1.75mM), 10µL dNTP (0.5mM), 2.5µL oligo dT (2.5 µM) 1µL inhibidor de RNAasas (1U/µL), 1.23µL transcriptasa reversa (2.5U/µL) y 18.25µL H₂O HyPure. El cDNA se utilizó para realizar el análisis de la expresión de los genes mediante PCR en tiempo real, utilizando al gen *β-actina* como gen de referencia.

7. Cuantificación de los transcritos mediante PCR en tiempo real

Para llevar a cabo el análisis por PCR en tiempo real, se utilizó el kit *DNA Green Master* y H₂O grado biología molecular. Previamente, se diseñaron los *primers* para *β-actina*, *α-lactoalbumina*, *caseína* e *IGF-1*, para lo cual se accedió a la base de datos de la *NCBI* (*por sus siglas en ingles National Center for Biotechnology Information*). Posteriormente, con el programa *Pick Primers* (*Primers 3 version 4.0.0*) se procedió al diseño de estos oligonucleótidos.

Dentro de las características consideradas para el diseño de los *primers* se tomaron en cuenta las siguientes especificaciones: en cuanto al tamaño se buscó que los fragmentos flanqueados fueran máximo 200 pb y que estuvieran localizados en sitios conservados (STS) que no involucraran más de dos exones, cuya posición no se encontrara en los extremos de las secuencias de los mensajeros.

También se consideró que el contenido de CG no sobrepasara el 60%, ya que esto incrementaría el valor de la TM (temperatura media de alineación), de igual forma se estableció como criterio, que la diferencia entre las TM teóricas de cada par de *primers* no excediera 1°C. En la Tabla 2 se muestra la secuencia de los *primers* diseñados.

Tabla 2. Secuencia de los *primers*.

Gen	Primer forward	Primer reverse
Gen de estudio		
<i>IGF-1</i>	ATgTATTgCgCACCCCTCAA	gCACTCCCTCTACTTgCgTT
Genes tejido específico		
<i>CASEINA</i>	CAACggTggACAgTgTAgTCA	AggCAgACAAATggCTgAAg
<i>α-LACTOALBÚMINA</i>	CATAATgTgCCAAGAAgATCCT	gCCACTgTTCCAgCTTCTCAgT
Gen de referencia		
<i>β-ACTINA</i>	TggAATCCTgTggCATCCATg	TAAAACgCAgCTCAgTAACAg

Como gen constitutivo se utilizó a β -actina, y para confirmar que el RNA provenía de lactocitos se utilizaron los genes que codifican para α -Lactoalbúmina y caseína que son de expresión tejido específico de la glándula mamaria.

8. Determinación del perfil de expresión génica de IGF-1 en lactocitos de los tres tipos de leche

Para analizar la expresión génica se llevaron a cabo ensayos de PCR en tiempo real por duplicado en el termociclador *Lightcycler Nano (Roche)* y como marcador se utilizó el fluorocromo *SYBR Green*. Para desnaturalizar el cDNA se pre-incubó a 95°C por 10 minutos. La amplificación inicio con 35 ciclos a 95°C por 10 segundos y la temperatura para la alineación fue 60°C por 7 segundos, finalizando con la emisión de fluorescencia. Para el análisis de la expresión se consideró el *punto de corte* o *ciclo umbral* (Ct) que se refiere al momento en el cual comienza el incremento en la fluorescencia. Se estableció el

Ct del gen β -actina y se calculó el valor de $\Delta\Delta C_t$ en unidades relativas y el resultado final se informó como $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

Previo al análisis de cada muestra, se realizaron las curvas de disociación de cada uno de los genes con el objetivo de determinar la concentración óptima del cDNA a utilizar. Las curvas de disociación se realizaron con cDNA de una muestra de calostro, con las siguientes concentraciones: [1:1], [1:10], [1:100], [1:1000] y [1:10000] (**Figura 6**). Para seleccionar la concentración óptima del cDNA, se registraron los Ct y se consideró el ciclo en el cual inicio la reacción de amplificación (detección de la expresión del transcrito).

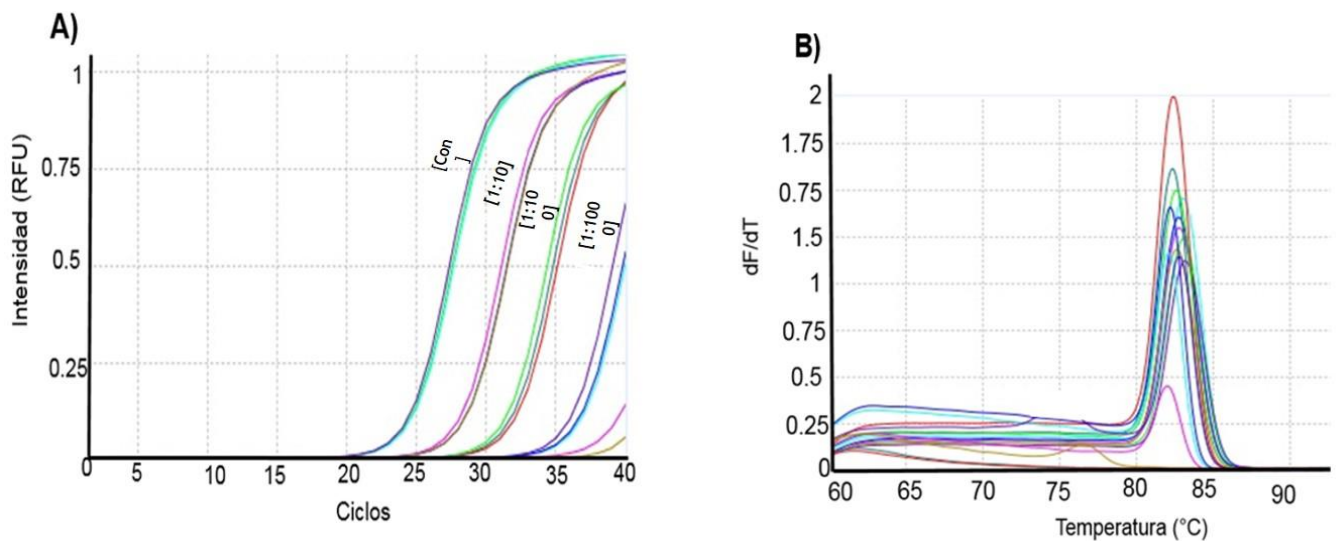


Figura 6. Curvas de disociación IGF-1. **A)** curva de cuantificación (izq. a der. [1:1] Ct = 23.5) unidades de fluorescencia del SYBR Green (RFU) contra el ciclo de amplificación. **B)** curvas de temperatura de fusión obtenida para el fragmento amplificado.

9. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con SPSS ver. 20 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Independientemente de si los datos siguieron una distribución normal, los datos se transformaron logarítmicamente (\log_{10}) para el análisis. La distribución

de datos se determinó con la prueba de Shapiro-Wilk/ Kolmogórov-Smirnov, los datos con distribución normal, se presentan como la media \pm desviación estándar (DE). Para identificar las diferencias en las variables entre las mujeres con %MG saludable y las mujeres con %MG no saludable, se calculó la prueba *t* de *Student* o la prueba de *chi-cuadrado* según corresponda. Para identificar las diferencias en la concentración de hormonas entre suero y la LM en cada tiempo del estudio, se llevó a cabo una *prueba t pareada*.

Adicionalmente, se realizó un análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA) con pruebas post hoc de *Bonferroni* para realizar las comparaciones por pares a través del modelo lineal general (MLG) estratificando de acuerdo al %MG materno; se comparó el calostro, la leche de transición y la leche madura. Fueron incluidos como covariables en el modelo para cada hormona tanto la edad materna y su correspondiente analito circulante a los 5, 15 y 30 días de lactancia.

Para el análisis de IGF-1 se emplearon hipótesis bilaterales y un modelo tipo III “interacción”, además de los efectos principales. Para determinar la asociación entre el %MG y la concentración hormonal se aplicó la prueba de correlación de Pearson considerando significativo un valor de $p \leq 0.05$. Finalmente, se estimó que 38 pacientes en cada grupo proporcionaron el 80 % del poder del estudio para identificar una diferencia de 25.6 $\mu\text{U/mL}$ en insulina de la LM proveniente de mujeres con adiposidad no saludable en comparación con mujeres con adiposidad saludable con una SD de 56.3 $\mu\text{U/mL}$ y $\alpha = 0.05$. Aunque el objetivo incluía una muestra inicial de 38 participantes por grupo, el análisis de datos intermedios mostró diferencias significativas en todas las variables analizadas.

RESULTADOS.

TRABAJO DE CAMPO.

Se impartieron un total de 68 *Pláticas - Talleres informativos sobre lactancia materna (UMF 4 y 10)* a 286 mujeres embarazadas, de las cuales 114 (39.86%) mujeres aceptaron participar en el estudio; de éstas, únicamente 80 voluntarias (27.97%) cumplieron con los criterios de inclusión establecidos para el estudio. No obstante, en la presente investigación sólo se incluyeron 58 (20.27%) mujeres lactando, de las cuales obtuvimos tres tipos de leche y concluyeron el estudio.

Mediciones antropométricas maternas.

Se tomaron las medidas de peso corporal, % de masa grasa y talla de las madres en las mismas fechas en que se colectaron las muestras de leche. Para clasificar a las participantes por estado de nutrición, se efectuó el análisis de la composición corporal en cada una de las visitas, sin embargo, se consideraron los valores registrados el día 30 post-parto para realizar la estratificación ya que justo al final del puerperio (30-40 días) el metabolismo materno se encuentra más estable. Las pacientes se estratificaron en 2 grupos de acuerdo con su % MG como: “Adiposidad saludable (% MG < 32)” y “Adiposidad no saludable (% MG ≥ 32). En la tabla 3 se muestran los datos demográficos y antropométricos de las 58 pacientes correspondientes a cada visita.

Los datos muestran que la edad de las mujeres con adiposidad no saludable (%MG > 32 %) fue significativamente mayor ($p = 0.005$) que aquellas con adiposidad saludable (%MG ≤ 32 %). También se registró que, el peso corporal materno y el IMC pregestacional y durante el período de estudio fueron significativamente más altos en mujeres con adiposidad no saludable ($p < 0.001$) que en mujeres con adiposidad saludable. Tanto los

valores de peso y de IMC pregestacional fueron obtenidos del expediente médico de las pacientes, considerando el último valor registrado antes de la gestación.

Tabla 3. Datos demográficos de mujeres lactando con diferente estado nutricional.

Variable	%MG Saludable <i>n</i> = 28 (48.3%)	%MG no saludable <i>n</i> = 30 (51.7%)	<i>t</i>	<i>p</i>
	M (DE)	M (DE)		
Edad (años)	24.3 (1.2)	28.0 (1.2)	-3.0	0.005
Talla (cm)	158.0 (1.0)	160.0 (1.0)	-1.6	0.106
Glucosa sérica [mg/dL]				
3-7 días postparto	71.5 (7.6)	73.7 (7.7)	-1.4	0.181
14-15 días postparto	75.3 (6.2)	78.7 (8.0)	-2.1	0.041
30 días postparto	79.5 (7.7)	79.8 (7.1)	-.16	0.876
Peso				
Pregestacional (kg)	54.7 (1.1)	70.1 (1.2)	-5.8	< 0.001
3-7 días postparto (kg)	58.5 (1.1)	75.9 (1.1)	-7.4	< 0.001
14-15 días postparto (kg)	56.4 (1.1)	72.7 (1.1)	-7.2	< 0.001
30 días postparto (kg)	55.3 (1.1)	71.4 (1.2)	-7.0	< 0.001
IMC, kg/m²				
Pregestacional	21.9 (1.1)	27.3 (1.2)	-6.1	< 0.001
3-7 días postparto	23.5 (1.1)	29.6 (1.1)	-8.0	< 0.001
14-15 días postparto	22.6 (1.1)	28.3 (1.2)	-7.8	< 0.001
30 días postparto	22.2 (1.1)	27.8 (1.1)	-7.7	< 0.001
% MG				
30 días postparto	26.3 (1.2)	37.9 (1.1)	-9.8	< 0.001
Volumen de LM				
3-7 días postparto (mL)	60 (5.5)	45 (5.5)	5.6	< 0.001
14-15 días postparto (mL)	75 (5.5)	60 (5)	5.7	< 0.001
30 días postparto (mL)	90 (5.5)	70 (5.5)	6.8	< 0.001

Saludable: mujeres con adecuado % MG (% MG < 32), **No saludable:** mujeres con exceso de % MG (%MG ≥ 32). Los datos se representan como medias (M) y desviación estándar (DE). Índice de Masa Corporal = peso (Kg)/ talla (m)², %MG= porcentaje de masa grasa, LM= leche materna.

Adicionalmente, se encontró que la concentración de glucosa sérica fue similar entre ambos grupos a los 3-7 días y 30 días después del parto, pero a los 14-15 días, la glucosa sérica fue significativamente más alta en mujeres con adiposidad no saludable que, en aquellas con adiposidad saludable ($p = 0.041$), aunque estos valores altos estaban dentro del rango normal.

Registro de las mediciones antropométricas del neonato.

Se registraron las medidas de peso corporal y longitud de cada neonato en las tres visitas programadas. Los valores de longitud y peso al nacimiento fueron tomados del expediente médico y se confirmó que coincidiera con el reportado por los padres en la primera visita (Tabla 4).

No se observaron diferencias estadísticas en el peso corporal, ni en la longitud entre los lactantes nacidos de madres con %MG saludable y los lactantes nacidos de mujeres con %MG no saludable, durante el primer mes de vida.

En la tabla 4 se observa que, en los neonatos, el género femenino predomina tanto en el grupo de mujeres con adiposidad saludable 54% y como en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable 67% contra el 46 y 33% que aporta el género masculino respectivamente.

Tabla 4. Antropometría infantil durante el primer mes de vida.

Variable	%MG	%MG no	<i>t</i>	<i>p</i>
	Saludable <i>n</i> = 28 (48.3%) M (DE)	saludable <i>n</i> = 30 (51.7%) M (DE)		
Infante				
Peso corporal				
Nacimiento, kg	3.1 (1.1)	3.1 (1.1)	0.41	0.686
3-7 días, kg	3.2 (1.1)	3.1 (1.1)	0.67	0.504
14-15 días, kg	3.4 (1.1)	3.3 (1.1)	1.0	0.314
30 días, kg	4.2 (1.1)	4.0 (1.2)	1.2	0.235
Longitud				
Nacimiento, cm	49.7 (1.0)	50.1 (1.0)	-.98	0.333
3-7 días, cm	49.0 (1.0)	48.6 (1.0)	.98	0.333
14-15 días, cm	50.4 (1.0)	49.7 (1.0)	1.5	0.152
30 días, cm	53.0 (1.0)	52.3 (1.0)	1.6	0.109
Género				
masculino (<i>n</i> = 23), n (%)	13 (46%)	10 (33%)	0.52	0.523
femenino (<i>n</i> = 35), n (%)	15 (54%)	20 (67%)	1.3	0.098

Los datos se representan como medias (M) y desviación estándar (DE).

Para conocer el estado nutricional de los lactantes fue necesario considerar las relaciones “Peso para la talla”, “Peso para la edad”, “Talla para la edad” los cuales se expresan en percentiles 15, 50 y 85. Sin embargo, en la Figura 7, sólo se presentan los porcentajes de los lactantes para cada percentil de Peso para la talla (>15= indicador de bajo peso, 50 = 50% de la población infantil presenta este peso y 85 = peso superior a los niños promedio).

De acuerdo con la OMS, la relación “Peso para la talla” es uno de los mejores indicadores de crecimiento, ya que refleja el peso corporal en proporción al crecimiento

alcanzado en longitud o talla indicando la situación actual del estado nutricional del individuo, independiente de la edad por lo que es considerado uno de los mejores índices para identificar niños o niñas que están con desnutrición, sobrepeso u obesidad y deficiencias nutricionales agudas.

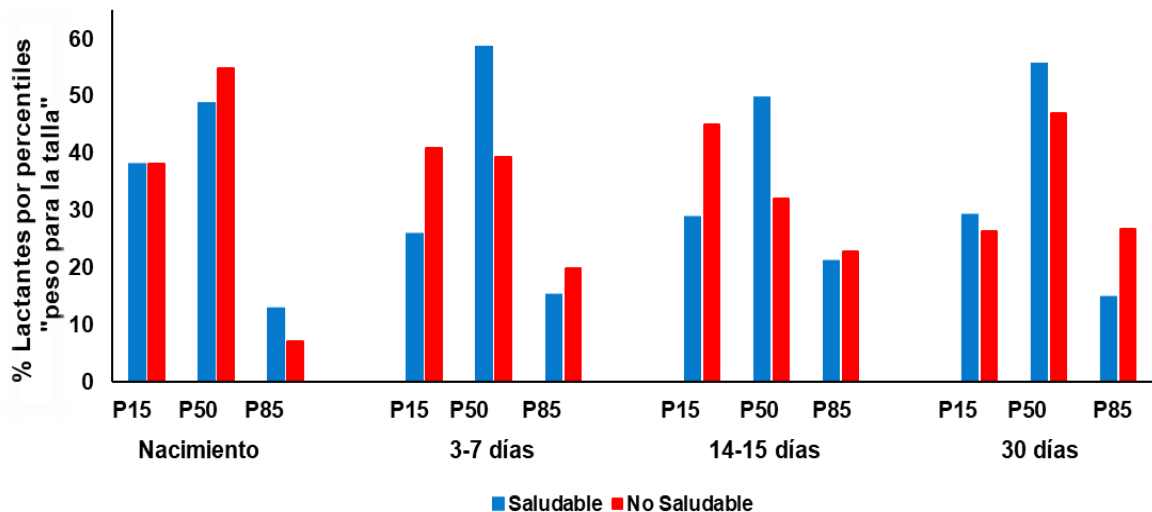


Figura 7. Porcentaje de lactantes en los percentiles "peso para la talla". Se muestran los datos obtenidos al nacer, a los 3-7 días, 14-15 días y a los 30 días. En azul lactantes nacidos de mujeres con adiposidad saludable y en rojo lactantes nacidos de mujeres con adiposidad no saludable

Influencia de la grasa corporal sobre los niveles de insulina, IGF-1 y la Obestatina en la LM y Suero/Plasma de las madres.

Los resultados de ANOVA de medidas repetidas mostraron que la LM proveniente de mujeres con exceso de adiposidad tenía concentraciones más altas de insulina e IGF-1 pero concentraciones más bajas de obestatina en comparación con las mujeres con adiposidad saludable a los 30 días posparto después de ajustar por covariables (Tabla 6). Específicamente la concentración de insulina en el calostro de mujeres con adiposidad no saludable fue mayor ($p < 0.005$) que, en aquellas con adiposidad saludable, pero en el suero correspondiente, la concentración de insulina no fue diferente ($p > 0.05$).

La concentración de insulina de la leche humana de transición y madura y de sus respectivos sueros fue significativamente más alta ($p < 0.005$) en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable (Tabla 5).

Para el factor de crecimiento IGF-1, se observaron concentraciones significativamente mayores en el calostro, la leche de transición, la leche madura y en las muestras de suero correspondientes ($p < 0.05$) en el grupo de mujeres con % MG no saludable en comparación con el grupo de mujeres con % MG saludable.

En contraste como se observa en la Tabla 6, la obestatina mostró concentraciones mayores ($p < 0.005$) en el grupo de mujeres con %MG saludable tanto en calostro, la leche de transición y la leche madura y sus correspondientes plasmas sanguíneos.

Tabla 5. Diferencia de insulina, IGF-1 y obestatina en el suero o plasma y la LM entre mujeres con diferente %MG.

Periodo (tiempo)	%MG	%MG no	<i>t</i>	<i>p</i>
	Saludable <i>n</i> = 28 (48.3%) M (DE)	saludable <i>n</i> = 30 (51.7%) M (DE)		
<u>3-7 días postparto</u>				
Insulina sérica, $\mu\text{U/mL}$	9.3 (2.0)	11.5 (1.6)	-1.4	0.094
Insulina calostro, $\mu\text{U/mL}$	12.6 (1.6)	18.9 (1.7)	-3.4	0.003
IGF-1 sérico, ng/mL	5.9 (5.0)	20.5 (4.8)	-2.9	<0.001
IGF-1 calostro, ng/mL	6.6 (5.9)	25.4 (3.6)	-3.3	<0.001
Obestatina plasma, pg/mL	278.2 (1.1)	245.7 (1.1)	5.5	< 0.001
Obestatina calostro, pg/mL	570.6 (1.0)	544.7 (1.0)	5.4	<0.001
<u>14-15 días postparto</u>				
Insulina sérica, $\mu\text{U/mL}$	8.5 (1.8)	15.1 (1.7)	-4.0	< 0.001
Insulina leche de transición, $\mu\text{U/mL}$	12.2 (1.4)	17.3 (1.4)	-4.1	< 0.001
IGF-1 sérico, ng/mL	11.6 (2.1)	23.9 (2.2)	-3.5	< 0.001
IGF-1 leche de transición, ng/mL	15.7 (2.1)	36.2 (2.0)	-4.5	< 0.001
Obestatina plasma, pg/mL	278.9 (1.1)	242.5 (1.1)	5.9	< 0.001
Obestatina leche de transición, pg/mL	564.4 (1.0)	547.8 (1.0)	3.5	< 0.001
<u>30 días postparto</u>				
Insulina sérica, $\mu\text{U/mL}$	7.4 (1.9)	12.2 (1.7)	-3.2	0.001
Insulina leche madura, $\mu\text{U/mL}$	11.7 (1.3)	16.6 (1.5)	-3.9	< 0.001
IGF-1 sérico, ng/mL	5.0 (3.9)	13.1 (3.6)	-2.7	0.007
IGF-1 leche madura, ng/mL	7.3 (4.7)	20.2 (5.1)	-2.4	0.001
Obestatina plasma, pg/mL	273.9 (1.1)	222.7 (1.1)	7.0	< 0.001
Obestatina leche madura, pg/mL	559.2(1.0)	524.8 (1.0)	6.8	< 0.001

Los datos se presentan como M (media) y DE (desviación estándar). IGF-1; Factor de crecimiento similar a la insulina. Los valores de “*p*”, indican la diferencia entre las mujeres con adiposidad saludable y no saludable.

Correlación entre el porcentaje de adiposidad materna con las concentraciones de insulina, IG-F1 y obestatina plasmática y de LM madura.

De acuerdo con el análisis de correlación, a los 30 días postparto, el porcentaje de adiposidad materna mostró una correlación positiva con la concentración de insulina sérica (Figura 8) y la insulina presente en la leche madura. Es decir que a medida que incrementa la adiposidad, también aumentó la concentración de insulina sérica ($r = 0.559$; valor de $p < 0.001$) y la de leche madura ($r = 0.578$, valor de $p < 0.001$).

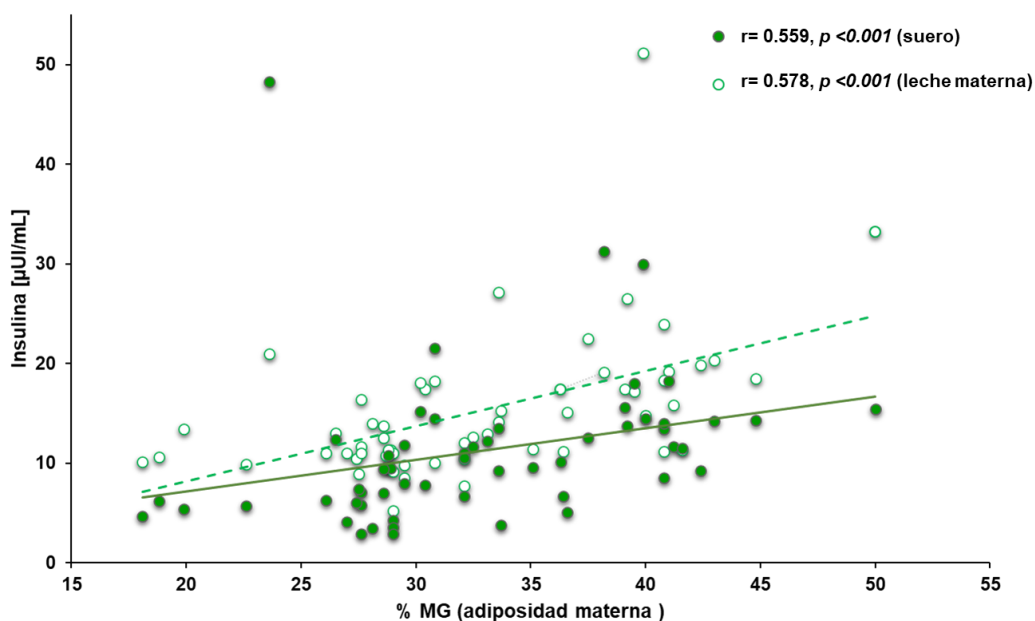


Figura 8. Correlación entre el porcentaje de adiposidad materna a los 30 días postparto con la concentración de insulina del suero y de la LM madura ($n = 58$). Correlación de Pearson.

Adicionalmente, el %MG de la madre también correlacionó positivamente con la concentración de IGF-1 sérico y la concentración de IGF-1 presente en la leche madura. Esto indica que, a medida que incrementa la adiposidad materna, también aumentan tanto el IGF-1 sérico ($r = 0.42010$, valor de $p = 0.002$) como las concentraciones de IGF-1 de la leche humana ($r = 0.448$; valor de $p = 0.001$).

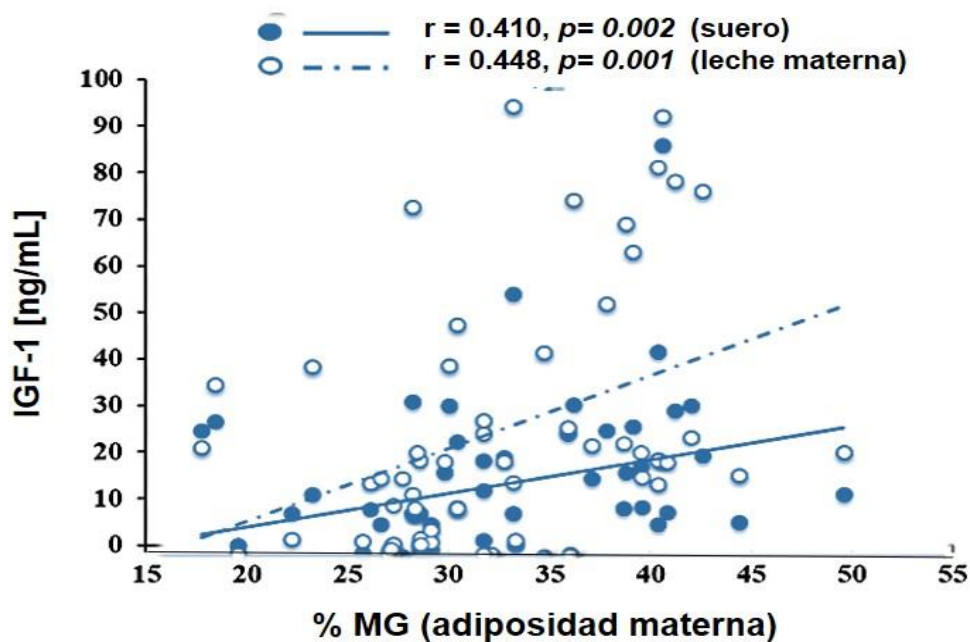


Figura 9. Correlación entre la adiposidad materna a los 30 días postparto y las concentraciones IGF-1 de la LM y de la sangre. ($n = 58$). Correlación de Pearson.

Por el contrario, observamos que el porcentaje de adiposidad materna tiene una fuerte correlación negativa con las concentraciones de obestatina en plasma ($r = -0.680$; valor de $p < 0.001$) y en la leche humana madura ($r = -0.741$; valor de $p < 0.001$) (Figura 10).

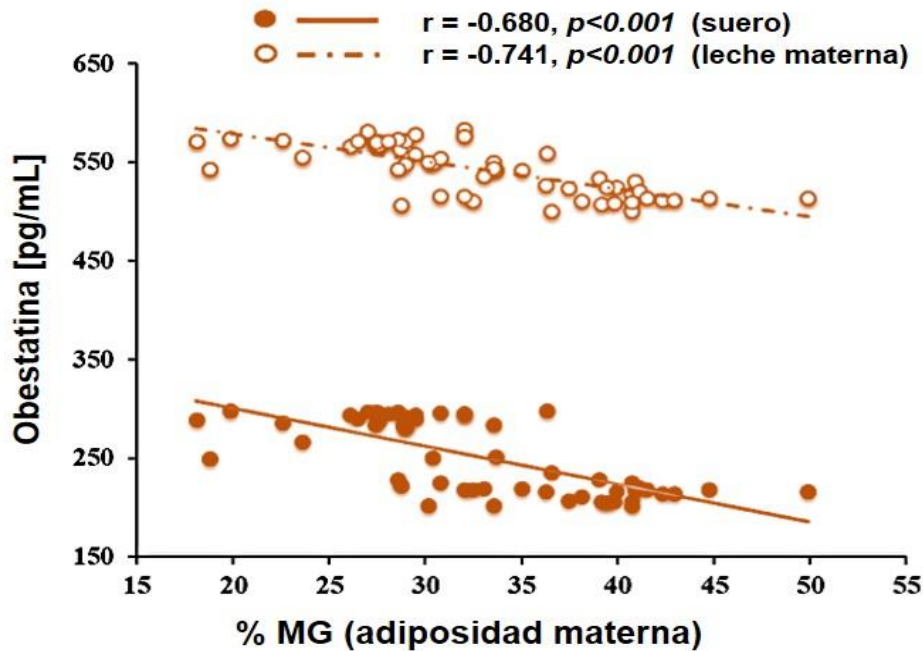


Figura 10. Correlación de la obestatina del torrente sanguíneo y de la LM con la adiposidad materna a los 30 días postparto. (n = 58). Correlación de Pearson.

Después de ajustar las covariables, con la edad materna y su correspondiente analito circulante, los resultados de ANOVA de medidas repetidas mostraron que la DM (diferencia de medias) de insulina en la LM no aumentó significativamente (p ajustado > 0.05) durante el primer mes postparto en las mujeres con adiposidad saludable. Por otro lado, las concentraciones de IGF-1 en la LM de mujeres con %MG < 32 fue significativamente mayor a los 14-15 días que a los 30 días postparto (DM = 4.40 ng/mL, p ajustada = 0.036, IC del 95 % [0.24; 8.56]); en contraste, la concentración de IGF-1 de la LM en el grupo de mujeres con exceso de grasa corporal no cambió significativamente durante el periodo de estudio (Tabla 6). La concentración de obestatina en la LM proveniente de mujeres con adiposidad saludable disminuyeron linealmente de 3–7 días a 14–15 días y 30 días postparto y de 3–7 días a 30 días postparto (DM = 6.4, p ajustada = 0.011, IC del 95% [1.3, 11.5]; DM = 11.5, p ajustado = .003, 95% IC [3.5, 19.5],

respectivamente). Mientras que en las mujeres con %MG >32 disminuyó desde los 3 a 7 días a los 30 días posparto (DM = 20.8, p ajustado < 0,001, IC del 95 % [12.1, 29.5]) y de los 14–15 días a los 30 días posparto (DM = 25.4, p ajustado < 0,001, IC 95% [14.3, 36.5], respectivamente); sin embargo, la obestatina de la LM en el grupo con adiposidad no saludable fueron comparables entre 3–7 y 14–15 días después del parto. Se presentan tres modelos, cada uno corresponde a una de los analitos cuantificados, “**Modelo 1= insulina**”, “**Modelo 2= IGF-1**” y finalmente “**Modelo 3= obestatina**”.

Tabla 6. Asociación entre la adiposidad materna y la insulina, IGF-1 y obestatina

Modelo	Diferencia de medias		
	% MG Saludable	95%CI	p
Insulina, [μU/mL]			
<u>Modelo 1</u>	6.3	3.2, 2.9	< 0.001
LM a los 3-7 días postparto	7.4	2.3, 12.5	0.007
LM a los 14-15 días postparto	5.5	2.5, 8.4	0.001
LM a los 30 días postparto	6.1	2.3, 9.9	0.003
IGF-1, [ng/mL]			
<u>Modelo 2</u>	21.7	11.0, 32.4	< 0.001
LM a los 3-7 días postparto	22.9	10.9, 35.0	0.001
LM a los 14-15 días postparto	22.3	10.0, 34.5	0.001
LM a los 30 días postparto	19.9	8.5, 31.3	0.001
Obestatina, [pg/mL]			
<u>Modelo 3</u>	-24.5	-34.0, -15.0	< 0.001
LM a los 3-7 días postparto	-25.1	-35.8, -14.3	< 0.001
LM a los 14-15 días postparto	-14.1	-23.4, -4.7	0.005
LM a los 30 días postparto	-34.3	-45.2, -23.5	< 0.001

ANOVA de medidas repetidas después de realizar el ajuste por edad materna y su correspondiente analito circulante medido a los 5, 15, y 30 días posparto.

Diferencias entre la concentración de insulina, obestatina e IGF-1 en la leche humana y en sangre.

La comparación entre las concentraciones de hormonas presentes en la leche humana con las observadas en el torrente sanguíneo se muestra en la Tabla 7. La concentración de insulina en el calostro y en la leche madura en ambos grupos fue significativamente mayor que en el suero correspondiente. En el grupo de mujeres con adiposidad saludable, la insulina presente en la leche de transición fue mayor en comparación con el suero materno (valor de $p < 0.05$). Mientras que, no se encontraron diferencias significativas en la concentración de insulina entre la leche de transición y su correspondiente suero en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable (valor de $p > 0.05$) (Tabla 8).

Por otro lado, en ambos grupos la concentración sérica de IGF-1 a los 3-7 días posparto fue similar a la observada en el calostro. En contraste la leche de transición y la madura presentaron concentraciones de IGF-1 más altas que sus correspondientes sueros maternos tanto en las mujeres con %MG saludable y %MG no saludable (valor de $p < 0.05$).

Finalmente, también encontramos que la concentración de obestatina del calostro, la leche de transición y la leche madura fue significativamente mayor en ambos grupos en comparación con sus correspondientes plasmas maternos (Tabla 8); es importante notar que la concentración en las muestras de LM fue aproximadamente el doble de la observada en la sangre (valor $p < 0.001$).

Tabla 7. Diferencia de insulina, IGF-1 y obestatina entre la LM y el torrente sanguíneo

Periodo	Suero /Plasma M (DE)	Leche materna M (DE)	<i>t</i>	<i>p</i>
Insulina (μU/mL)				
3-7 días postparto				
% MG saludable	9.3 (2.0)	12.6 (1.5)	-2.5	0.010
% MG no saludable	11.5 (1.6)	18.9 (1.6)	-6.0	<0.001
14-15 días postparto				
% MG saludable	8.5 (1.8)	12.2 (1.4)	-4.0	0.002
% MG no saludable	15.1 (1.7)	17.3 (1.4)	-1.7	0.304
30 días postparto				
% MG saludable	7.4 (1.9)	11.7 (1.3)	-4.5	0.001
% MG no saludable	12.2 (1.7)	16.6 (1.5)	-3.8	0.001
IGF-1 (ng/mL)				
3-7 días postparto				
% MG saludable	5.9 (5.0)	6.2 (5.9)	-0.16	0.428
% MG no saludable	20.5 (4.8)	25.4 (3.6)	-1.3	0.651
14-15 días postparto				
% MG saludable	11.5 (2.3)	15.7 (2.1)	-3.4	0.006
% MG no saludable	23.9 (2.2)	36.2 (2.0)	-4.9	<0.001
30 días postparto				
% MG saludable	5.4 (3.9)	7.1 (4.8)	-1.9	0.002
% MG no saludable	13.1 (3.6)	19.7 (5.2)	-3.3	<0.001
Obestatina (pg/mL)				
3-7 días postparto				
% MG saludable	278.2 (1.1)	570.6 (1.0)	-55.2	<0.001
% MG no saludable	245.7 (1.1)	544.7 (1.03)	-65.5	< .001
14-15 días postparto				
% MG saludable	278.9 (1.1)	524.4 (1.0)	-60.6	<0.001
% MG no saludable	242.5 (1.1)	547.8 (1.0)	-60.0	<0.001
30 días postparto				
% MG saludable	273.9 (1.1)	559.2 (1.0)	-44.7	<0.001
% MG no saludable	222.7 (1.1)	512.9 (1.0)	-51.4	<0.001

Los datos se presentan como la M (media) y DE (desviación estándar). Las diferencias entre los grupos fueron evaluadas por la hipótesis bilateral t- *Student* = prueba *t pareada*. IGF-1; Factor de crecimiento similar a la insulina. Los valores de “*p*”, indican la diferencia entre el suero o plasma sanguíneo y la leche materna.

Cambios en la concentración de insulina, IGF-1 y obestatina en leche y en circulación durante el primer mes posparto.

Las diferencias se evaluaron mediante análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA) con pruebas post hoc de *Bonferroni* para realizar las comparaciones por pares a través del modelo lineal general (MLG) estratificando de acuerdo al %MG materno. En la Figura 11A, se muestra que la concentración de insulina sérica de mujeres con adiposidad saludable tiende a disminuir desde 3-7 días al día 30 posparto ($\neq p = 0.066$), de igual forma se observó una tendencia a disminuir de 14-15 días al día 30 ($\neq p = 0.071$). En las mujeres con adiposidad no saludable, la concentración de insulina sérica aumentó del 3 a 7 días a 14 a 15 días después del parto ($p < 0.005$) y finalmente disminuyó a los 30 días ($p < 0.05$). Por otro lado, la concentración de insulina en la leche humana se mantuvo similar durante el primer mes de lactancia en ambos grupos (Figura 11B).

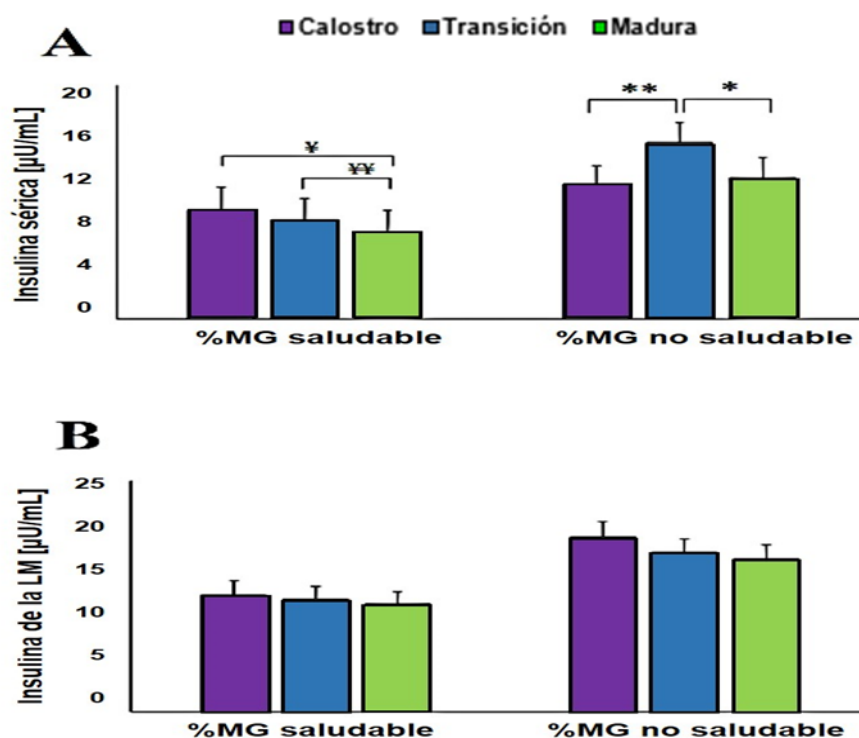


Figura 11. Cambios en la concentración de insulina en el suero (A) y en la leche humana (B) de mujeres con adiposidad saludable y no saludable. (ANOVA) con prueba post hoc de Bonferroni. Los datos se presentan como media (desviación estándar) % MG= porcentaje de masa grasa. $\neq p = 0.066$, $\neq p = 0.071$, $** p < 0.005$, $* p < 0.05$.

La concentración de IGF-1 sérico en mujeres con %MG<32 mostró una tendencia a incrementar de los 3-7 días a los 14-15 días postparto ($^{***} p = 0.067$); mientras que dicha concentración fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que a los 30 días posparto (Figura 12A). Asimismo, en el suero de mujeres con %MG>32, la concentración de este factor de crecimiento fue mayor a los 3-7 días ($p < 0.05$) y a los 14-15 días posparto ($p < 0.005$) que a los 30 días posparto.

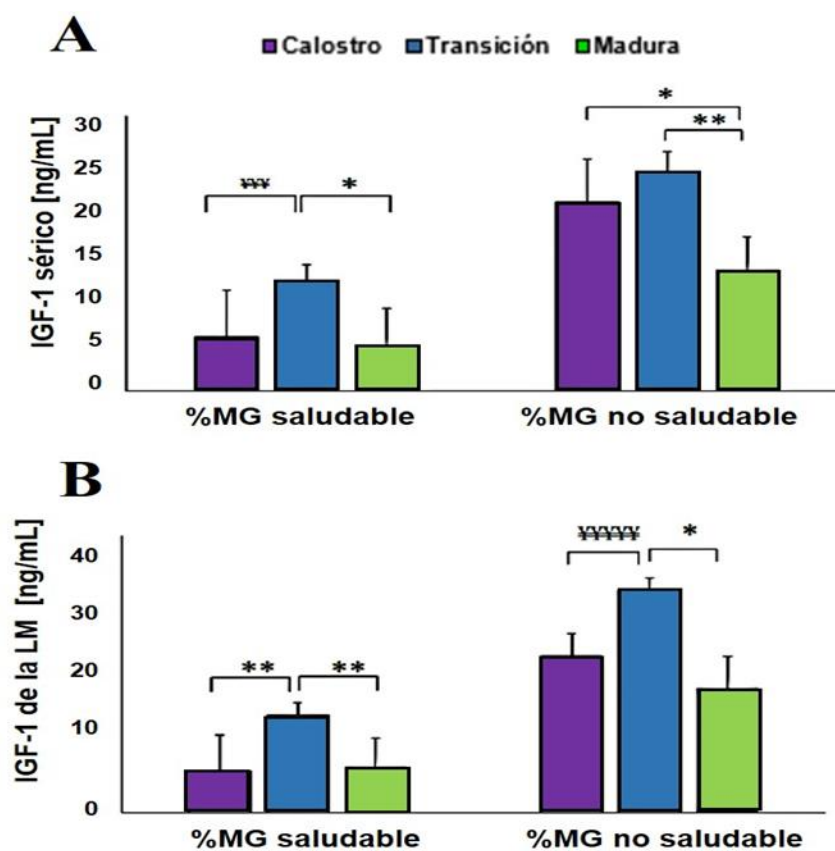


Figura 12. Cambios en la concentración de IGF-1 en el suero (A) y en la leche humana (B) de mujeres con adiposidad saludable y no saludable. Se evaluaron las diferencias mediante la prueba (ANOVA) con post hoc de Bonferroni. Los datos se presentan como media (desviación estándar) % MG= porcentaje de masa grasa. $^{***} p = 0.067$; $* p < 0.05$; $** p < 0.005$.

Por otro lado, la concentración de IGF-1 en la leche humana en transición aumentó significativamente ($p < 0.005$) respecto al calostro. Sin embargo, en la leche madura se observó nuevamente un descenso significativo ($p < 0.005$) en las mujeres con adiposidad saludable (Figura 12B). Mientras que, en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable, únicamente se observó una tendencia a incrementar de los 3-7 a los 14-15 días ($^{***}p=0.080$) y un descenso significativo de los 14-15 días al día 30 ($p < 0.05$).

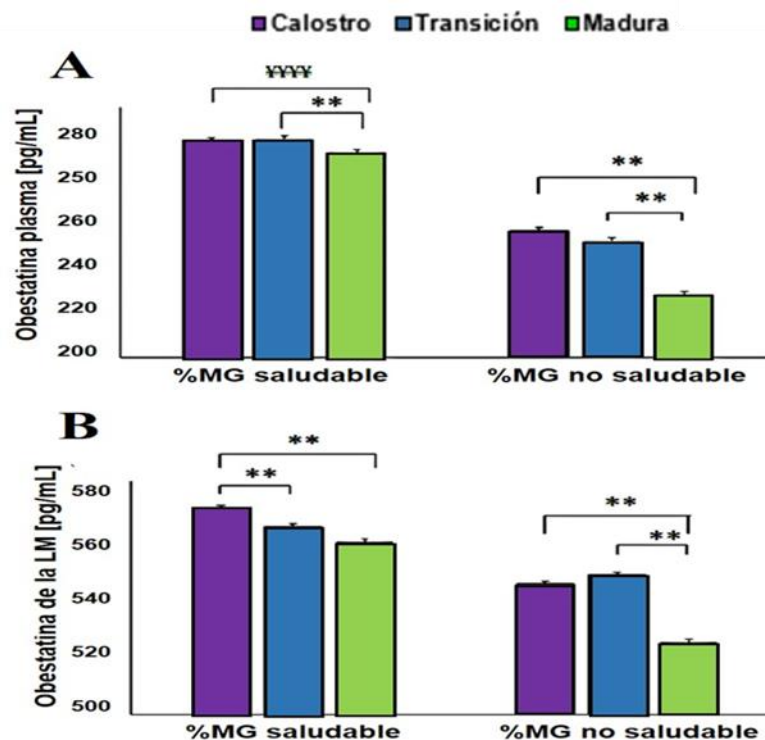


Figura 13. Cambios en la concentración de obestatina en el plasma (A) y en la leche humana (B) de mujeres con adiposidad saludable y no saludable. Se evaluaron las diferencias mediante la prueba (ANOVA) con prueba post hoc de Bonferroni. Los datos se presentan como media (desviación estándar). % MG= porcentaje de masa grasa. $^{***}p=0.080$; $^{**}p < 0.005$.

Finalmente, la concentración de obestatina en plasma disminuyó significativamente (valor $p < 0.005$) del 14-15 posparto al día 30 posparto, en el grupo de mujeres saludables y mostró una tendencia a disminuir de los 3-7 días al día 30 (Figura 13 A). En el grupo de mujeres con %MG>32 disminuyó significativamente durante el primer mes postparto (valor

de $p < 0.005$). De manera similar, las concentraciones de obestatina en LM en el grupo de mujeres con adiposidad saludable disminuyeron linealmente de 3–7 a 14–15 días y al 30 día posparto. (Figura 13B). Mientras que, en el grupo de mujeres con obesidad, disminuyó de 3-7 a los 30 días y de los 14-15 a los 30 días post-parto.

Cambios en la expresión del RNAm de IGF-1 después del parto.

Se extrajo el RNAm de lactocitos de una submuestra de participantes seleccionados al azar para realizar el análisis de expresión de IGF-1 en el calostro, la leche de transición y la LM madura. En la figura 14 se pueden observar los niveles del transcrito (unidades relativas) de caseína y α -lactoalbúmina los cuales fueron utilizados como genes de expresión tejido específico y los niveles del transcrito de IGF-1. Por primera vez se reporta la expresión del RNAm de IGF-1 en los lactocitos de la leche materna humana, aunque es preciso mencionar que la expresión de este transcrito se mantuvo sin cambios en el calostro, la leche de transición y la leche madura.

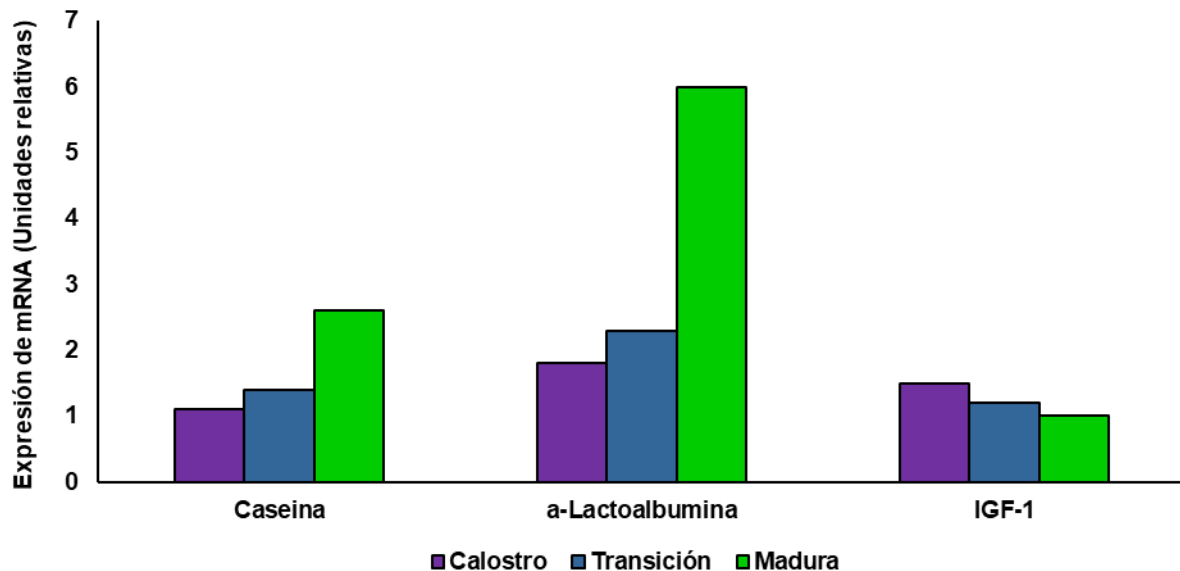


Figura 14. Cambios en la expresión de IGF-1, caseína y α -Lactoalbúmina en los lactocitos provenientes de calostro, leche de transición y leche madura. Normalizado con el gen β -actina.

DISCUSIÓN

Parámetros antropométricos y demográficos

Se ha propuesto que la insulina, la obestatina y el IGF-1 de la LM pueden desempeñar un papel vital en la regulación del apetito y el crecimiento del lactante (11,57-58). No obstante, no se ha comprobado de forma concluyente si su presencia en la leche humana está influenciada por la adiposidad materna. Por lo tanto, en este estudio se evaluó la concentración de estas hormonas se asocia con la adiposidad materna, para lo que fue necesario incluir mujeres con diferente estado de nutrición que incluyó mujeres con normo-peso y con sobrepeso/obesidad que se encontraban lactando y clínicamente sanas durante el embarazo.

Las 58 mujeres lactantes incluidas en el estudio de noviembre del 2016 a agosto del 2018 se estratificaron de acuerdo al %MG materno registrado al mes posparto (Tabla 3), de las cuales 28 de ellas tuvieron %MG saludable y 30 tuvieron %MG no saludable, por lo que, se observa que se incluyeron poblaciones numéricamente similares haciendo comparables los resultados entre estados nutricios. Es importante mencionar, que al inicio del estudio se había planteado la estratificación de acuerdo al IMC, no obstante, en el caso de las mujeres puérperas éste no es un indicador preciso, ya que después del parto algunas retienen líquidos “presentan edema” el cual puede persistir durante las primeras semanas postparto. Aunado a esto hay que considerar que durante la gestación el volumen sanguíneo materno aumenta para cubrir las necesidades del producto y después del parto comienza a disminuir paulatinamente hasta regresar a niveles fisiológicos. Estos dos factores podrían influir en el peso corporal materno y como consecuencia en el IMC, por lo que durante el puerperio no reflejaría el estado nutricio real de las participantes; por lo que se decidió estratificar a las pacientes considerando su % de MG.

Una de las dificultades que se presentó durante la colecta de las muestras fue que la producción láctea en la mayoría de las participantes con %MG no saludable fue menor que en las mujeres lactantes con %MG saludable (Tabla 3). Las alteraciones en la producción láctea asociadas a la obesidad, son ampliamente conocidas, tal y como lo reportó Preusting, *et al.*, 2017, ya que la obesidad materna se asocia con el inicio tardío de la lactancia, esto se debe a que las mujeres con obesidad generalmente tienen partos prolongados y por cesárea, lo que podría ocasionar un incremento del nivel de estrés, liberando mayor cantidad de cortisol y disminuyendo la secreción de oxitocina y prolactina; hormonas que podrían retrasar el inicio de la lactogénesis II (59) y considerando el criterio propuesto por Lohman en 1992 el cual utilizamos para clasificar a nuestras participantes, aquellas participantes que presentaron adiposidad no saludable son consideradas con sobrepeso/obesidad. Para este criterio las mujeres con %MG= 32% son clasificadas como mujeres con sobrepeso mientras que aquellas que presentan %MG> 32 son consideradas como obesas es decir que ambos grupos de mujeres presentan adiposidad no saludable.

En cuanto a los datos demográficos, estos indican que la edad es un factor que puede influir en el %MG. Las mujeres lactantes con mayor edad presentaron un mayor %MG, lo cual coincide con lo publicado por Gába y Priladová, en el 2014. Los autores reportan que conforme incrementa la edad materna, estas presentan un mayor almacenamiento de grasa, debido a la disminución de su tasa metabólica y a la baja producción de estrógenos (60).

Las concentraciones de glucosa sérica durante el primer mes post-parto no mostraron diferencias significativas entre las mujeres lactantes con diferente %MG, lo que nos permite evidenciar que las participantes de ambos grupos eran metabólicamente

sanas. Según lo reportado por Zhao en el 2013, durante el periodo de lactancia, la glucosa se requiere para el mantenimiento de la producción láctea y para la síntesis de ácidos grasos que tiene lugar en la glándula mamaria. Así que, una parte de la glucosa sérica materna 60-85% es absorbida a través de la glándula favoreciendo al descenso paulatino de glucosa (61).

Se observó que el peso pregestacional, el peso a los 3-7, a los 14-15 días y al día 30 y los valores de IMC y % MG de esos días fueron estadísticamente más elevados en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable (Tabla 3). Sin embargo, es importante recalcar que durante la gestación, todas las mujeres registran un incremento de peso normal que de acuerdo a Widen y Gallagher, 2014, está distribuido entre masa magra y masa grasa, aumentando así el %MG durante la semana 30 de gestación “2.3 kg”, con la propósitos de beneficiar el crecimiento intrauterino, además de proveer suficientes reservas que serán utilizadas durante la lactancia (62). No obstante, en mujeres con sobrepeso sobre todo en aquellas que se realiza cesárea, difícilmente se ha observado una disminución normal de peso durante el puerperio debido a la falta de actividad física y al reposo recomendado como parte de los cuidados postoperatorios.

Adicionalmente, al analizar los valores antropométricos de los lactantes (Tabla 4) no se encontraron diferencias significativas en la longitud, el peso corporal y el sexo biológico de los lactantes pertenecientes a ambos grupos. Se esperaba encontrar pesos corporales más elevados en los lactantes provenientes de mujeres con adiposidad no saludable, porque de acuerdo con Freeman *et. al* 2010, Yu *et. al* 2018, y Ellsworth y colaboradores en 2020, las madres con obesidad tienen descendencia con mayor peso y mayor Z-score de IMC al nacer y durante la infancia temprana, inclusive pueden ser

macrosómicos, sobre todo cuando la gestación va acompañada de diabetes gestacional, y son más susceptibles a desarrollar obesidad (63-64).

No obstante, las participantes de este estudio fueron mujeres “clínicamente sanas”, las cuales recibieron atención médica durante toda la gestación, por lo que se cuidó que el incremento de peso materno fuera el permitido en pacientes con sobrepeso u obesidad, lo cual pudo haber influido en que los neonatos nacidos de este grupo de mujeres presentaron pesos similares a los recién nacidos de mujeres con adiposidad saludable.

Hormonas reguladoras de la ingesta alimenticia.

Insulina

Los resultados de este estudio coincidieron con hallazgos previos, los cuales indican que la concentración de insulina sérica y de la LM están directamente relacionados con el estado nutricional materno (Tabla 5). Específicamente los trabajos de Young *et. al.* en 2017, Yu y colaboradores en 2018 y el de Guler *et.al.*, en 2021 encuentran que la concentración de insulina circulante se asocia con el IMC materno, donde la concentración de insulina sérica de mujeres lactando, es más elevada en mujeres con sobrepeso u obesidad (49,57,64). Mientras que Schneider-Worthington *et al.*, en 2021 reportó que las concentraciones de insulina de la LM se asociaron con sus correspondientes sueros maternos, adicionalmente la masa grasa de la madre se asoció positivamente con la concentración de insulina ($p = 0.005$) (65).

Nuestros resultados muestran que la concentración de insulina en LM fue consistentemente más alta que en el suero materno durante los primeros 30 días del puerperio, lo cual también fue informado por Schneider-Worthington y colaboradores en el 2020 (65). La mayor concentración de insulina en la LM podría explicarse porque según

Neville en el 2013, la sensibilidad a la insulina por la glándula mamaria varía a lo largo del ciclo reproductivo femenino, observándose durante la lactancia un incremento de los receptores de insulina en la glándula; por lo que, se verían favorecidos tanto la absorción y el transporte de la insulina sérica a través del epitelio mamario hasta llegar al lumen alveolar para ser secretada en la LM (66). En general las moléculas de naturaleza proteica de la leche materna pueden tener múltiples orígenes, la mayoría son sintetizados en los acinos de la glándula mamaria a partir de aminoácidos libres o de péptidos cortos aportados por la circulación sanguínea; estos deben llegar al citoplasma de las células acinares (20, 42).

Los lactantes están expuestos a altas concentraciones de insulina oral al comienzo de la lactancia y es durante este período, donde se presenta la diferenciación posnatal de células β pancreáticas funcionalmente maduras que secretan insulina (67). La insulina no sólo juega un papel importante en la maduración intestinal, sino que también puede contribuir a mejorar la actividad de la lactasa e induce la producción de amilasa pancreática (68). También se ha propuesto que la insulina consumida por el lactante a través de la LM, interviene en la programación nutricia infantil y en la maduración gastrointestinal. Durante los primeros 6 meses de vida, el sistema digestivo se encuentra fisiológicamente inmaduro por lo que, se produce una menor secreción de enzimas pancreáticas y un bajo volumen de ácido gástrico, lo cual impide la degradación y favorece el transporte de insulina en su forma activa a través de la mucosa intestinal, para ser absorbida por los enterocitos, estimulando así la maduración intestinal (67-68).

Sin embargo, aún no se ha comprobado de forma concluyente si la leche derivada de mujeres con obesidad podría promover el desarrollo de obesidad o la mayor ganancia

de peso del lactante (11, 65); pero se ha planteado la hipótesis de que el consumo exógeno de dosis elevadas de insulina a través de la LM sí podría influir negativamente el metabolismo del infante (64). Nuestros hallazgos, coinciden con esta información ya que tanto el calostro, la leche de transición y la leche madura de mujeres con obesidad proporciona 6.3 μ U/mL más de insulina que las mujeres sin obesidad.

Por otro lado, se observó una disminución en la concentración de insulina sérica a los 14–15 y 30 días después del parto en las participantes sanas, lo cual puede deberse a una mejor sensibilidad a la insulina después de la gestación; sin embargo, esta disminución no se observó en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable. Las mujeres lactantes con adiposidad no saludable presentaron concentraciones de insulina sérica más altas; debido probablemente a que la resistencia periférica a la insulina que se desarrolla durante el último trimestre de la gestación impide que la insulina regrese a concentraciones fisiológicas.

Algunos autores entre ellos Schindler et al., 2006 han reportado que la obesidad materna se asocia con la intolerancia a la glucosa y con el incremento en la secreción de insulina, promoviéndose la acumulación de triacilglicéridos en los adipocitos (69). Conjuntamente, los hallazgos nos indican que la hiperinsulinemia puede acentuarse en las personas con obesidad y podría tener implicaciones negativas para las mujeres gestantes y su descendencia de acuerdo con Kampmann *et al.*, 2019 (70). No obstante, la lactancia materna podría favorecer a la normalización de la secreción de insulina y por consiguiente el metabolismo de la glucosa durante el periodo perinatal (71-72).

Nuestros resultados también demostraron que la concentración de insulina está relacionada con el %MG. Las concentraciones más altas de insulina de la LM en el grupo

de mujeres con adiposidad no saludable pueden ser clínicamente significativos. Esta propuesta se basa en lo mencionado por Chan et., al. en 2018, quienes reportan que, las concentraciones de insulina de hasta 20.3 $\mu\text{U}/\text{mL}$ en la LM influyen negativamente en el crecimiento y en la composición corporal del lactante durante el primer año de vida (73). Además, en algunos trabajos como el de Sims y colaboradores en 2020 se asoció positivamente la concentración de insulina de la LM con el índice de masa grasa corporal durante los primeros 9 meses de vida del lactante (74).

También se ha reportado una asociación positiva entre la concentración de insulina y la velocidad de crecimiento en “longitud” durante el primer año de vida en los infantes (75-77), por lo que, el aporte de insulina exógeno a través de la LM es de suma importancia durante el periodo neonatal. No obstante, sería necesario que dicho aporte fuera disminuyendo conforme va creciendo el lactante ya que sus células β pancreáticas adquieren su madurez funcional en el periodo postnatal, el cual implica el control de la secreción basal y la producción de señales metabólicas capaces de activar la secreción de insulina (67); de por lo que, dejaría de ser necesario un aporte exógeno y el hecho de someter al lactante a altas dosis de insulina podría influir negativamente en su metabolismo, ya que de acuerdo con Zhang y sus colaboradores en 2017, la concentración de insulina sérica elevada se asocia con el aumento acelerado de peso en la primera infancia (primeros 3 o 5 meses) (78) .

Finalmente, se observa que existe correlación positiva entre la concentración de insulina sérica y la secretada en la LM y el % MG materno (Figura 8), lo cual sugiere que su estado metabólico aún se encuentra alterado, ya que algunas de las participantes presentaron resistencia a la insulina. Al calcular el índice HOMA (Anexo 5, Tabla 8), se observa que hay una tendencia a los días 5-7 ($p= 0.087$) a ser más elevada en mujeres

con adiposidad no saludable, y a partir de los días 14-15 se observa que en las mujeres con %MG no saludable los valores de HOMA son más elevados, manteniéndose así hasta el día 30 posparto, tal como lo reportaron Young BE et.al., en el 2017.

IGF-1

Nuestros hallazgos muestran que las concentraciones de IGF-1 séricos fueron más elevadas en las mujeres con %MG no saludable a lo largo del primer mes posparto, lo que sugiere que la adiposidad materna influye directamente sobre la concentración de este factor. Estos resultados son consistentes con los reportado por Lewitt en 2017, quien menciona que este factor de crecimiento está relacionado con el desarrollo de obesidad (79).

En adultos, la concentración sérica de IGF-1 se correlaciona directamente con el IMC y se ha sugerido que se transfiere al tejido adiposo del seno y a las glándulas mamarias (80). Por otro lado, el hecho de que la concentración de IGF-1 fuera mayor en el calostro, la leche de transición y la leche madura de mujeres con adiposidad no saludable que en mujeres con menos tejido adiposo permite sugerir que la adiposidad materna alterada podría influir negativamente en el aporte de IGF-1 a través de LM y podría afectar negativamente el metabolismo del lactante (11, 81) (Tabla 6).

Por otro lado, se encontró que durante el puerperio de IGF-1 secretado en la LM fue consistentemente más alto que el secretado en el suero materno. Conforme a lo mencionado por Ha *et. al.*, 2016, esto puede deberse a que la glándula mamaria favorece la captación de IGF-1 y a que probablemente los tejidos mamarios tienen la capacidad de sintetizar IGF-1, lo cual sugería la presencia de RNAm de IGF-1 en la LM (82).

Además, el hecho de encontrar mayores concentraciones de IGF-1 en la LM, también podría estar relacionado con lo que se ha hipotetizado de que si el aporte exógeno de IGF-1 a través de la LM se mantiene elevado podría promover una mayor ganancia de peso del lactante. Algunos autores como Kon IY y colaboradores en 2014 han observado una correlación positiva entre la concentración de IGF-1 de la leche materna y el aumento de peso corporal del lactante ($r = 0.294$, $p = 0.043$) a los 3 meses de vida (56). Consistentemente, Galante y colaboradores en 2020 reportaron que la concentración de IGF-1 de la LM, se asocia positivamente con el peso del lactante ($p = 0.004$) y con el z-score de peso para la edad a los 13 meses (83).

Sin embargo, algunos otros investigadores como Khodabakhshi y colaboradores en el 2015 no reportaron diferencias significativas en las concentraciones consumidas de IGF-1 a través de la LM entre los lactantes con normo peso y aquellos considerados con sobrepeso (percentil de peso para la talla >97) ($p > 0,05$) (55). Por lo que, es necesario realizar estudios que permitan determinar de forma concluyente el efecto de este factor de crecimiento, sobre el crecimiento durante el primer año de vida.

La concentración de IGF-1 fue variable en los diferentes tipos de LM en mujeres con adiposidad sana y se mantuvo sin cambios en las mujeres con obesidad. Específicamente observamos concentraciones más altas de IGF-1 en la LM a los 14–15 días posparto, lo cual coincide con lo reportado por algunos investigadores como Milsom y colaboradores en el 2008 quienes encontraron concentraciones de IGF-1 más elevadas en la LM durante las primeras 2 semanas posparto en comparación de la leche madura extraída a los 9 meses posparto (54).

Análisis de expresión génica

Los resultados demuestran que el cDNA obtenido de los glóbulos de grasa efectivamente provenía de tejido epitelial mamario específicamente de los “lactocitos” ya que se identificó el transcrito de la α -Lactoalbúmina y de la caseína, y ambos genes fueron propuestos por Hall y colaboradores desde 1982 como genes tejido específico para la glándula mamaria (91).

Específicamente la expresión de la caseína incrementó durante el primer mes de lactancia (Figura 14), el cual es un comportamiento esperado ya que a medida que el infante crece requiere mayor aporte proteico y la caseína es uno de los componentes mayoritarios. La caseína se requiere para regular la motilidad gastrointestinal y la permeabilidad intestinal del lactante (92). Por otro lado, la expresión de la α -Lactoalbúmina (Figura 14), fue mayor en la leche madura con respecto al calostro, lo cual coincide con la demanda del lactante el cual se encuentra en constante crecimiento, considerando que α -Lactoalbúmina constituye la principal fuente de aminoácidos para el desarrollo celular y de tejidos (80, 92).

Nuestros hallazgos aportan nueva información sobre el origen de IGF-1 en la LM, ya que hasta nuestro conocimiento no existían reportes acerca de expresión de estos transcritos en el tejido epitelial mamario. La expresión de este transcrito en los lactocitos podría explicarse con lo propuesto por Hawkes y colaboradores en 2019 y por Goldman en el 2000, quienes propone que los factores de crecimiento están presentes en la leche materna para contribuir a la maduración del tracto gastrointestinal y al desarrollo de la mucosa intestinal del lactante y para favorecer el crecimiento del lactante (46, 93).

Obestatina

La concentración de obestatina tanto en leche materna como en plasma sanguíneo fue más baja en las participantes con exceso de tejido adiposo en comparación con aquellas mujeres con tejido adiposo saludable. Nuestros hallazgos son consistentes con las investigaciones previas de Nakahara y colaboradores 2008 y de Figen *et., al.* en 2020, que demostraron en participantes no lactantes que la concentración de obestatina circulante está asociada negativamente con la obesidad (84-85). Específicamente en nuestro estudio, las bajas concentraciones encontradas en las mujeres lactando con obesidad, podrían relacionarse directamente con su función anorexigénica, al intervenir en la supresión de la motilidad intestinal a través del receptor orphan GPR39 y así influir en el aumento del peso corporal materno.

Por otro lado, encontramos que, en tanto en el calostro, como en la leche de transición y en la leche madura, las concentraciones de obestatina son aproximadamente el doble que las observadas en el plasma sanguíneo en mujeres con y sin obesidad. Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Aydin *et., al.* 2008, aunque es preciso considerar que en este trabajo no diferenciaron entre madres normo peso o con obesidad (52). Es probable que la secreción elevada de obestatina en la LM sea indispensable para el lactante, ya que el apetito de los recién nacidos debe regularse y si el lactante no recibe el suministro exógeno necesario de obestatina durante las primeras semanas de vida, la señal de saciedad no sería la adecuada, lo que provocaría una desregulación del apetito a largo plazo (11,65, 86).

Adicionalmente, la obestatina de la LM podría favorecer el funcionamiento intestinal y preparar el tracto gastrointestinal del recién nacido que está recibiendo alimentos por

primera vez para iniciar sus funciones (65). Sin embargo, aún no se ha investigado la relación entre los niveles de obestatina de la LM y la programación nutricional en lactantes; por lo que se requieren más estudios que involucren al binomio madre-lactante si se pretende dilucidar el efecto de la obestatina de la LM, sobre el crecimiento infantil.

Finalmente, la concentración de obestatina sanguínea disminuyó significativamente a lo largo de los primeros 30 días posparto, esto en las mujeres con adiposidad saludable y no saludable. Este comportamiento es consistente con lo reportado por Fontenot *et.,al.*, 2007 quienes reportaron que a partir de las 24hrs después del parto se observa una disminución de la obestatina sérica en mujeres clínicamente sanas (87).

Es probable que la pérdida de peso que se da durante el puerperio y la euglucemia son procesos más controlados en las mujeres con adiposidad saludable en comparación con aquellas que presentan adiposidad no saludable y por este motivo es más evidente el descenso de obestatina en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable (88).

Mientras que en la LM la concentración de obestatina disminuyó gradualmente desde el calostro y hasta que se produce leche madura en las mujeres sin obesidad, en las mujeres con obesidad esta disminución no fue lineal, mostrando únicamente un descenso significativo en la concentración de obestatina entre el calostro y la leche madura, lo que puede estar relacionado con su función en el control del apetito (52-53). Además, es probable que la disminución de obestatina de la LM que observamos también se asocie con lo reportado por Zhang y colaboradores en 2014 quienes encontraron, bajos niveles de expresión de obestatina a nivel de RNAm y de proteína en la sangre, durante el periodo neonatal, en lactantes nacidos a término temprano y tardío (89).

Debido a esto, los neonatos requieren un aporte exógeno de esta hormona a través de la LM lo cual podría cubrir el déficit del neonato y contribuiría positivamente al metabolismo de lactante (53). Hassouna *et.al.*, 2010, reportaron que la concentración de obestatina sérica aumenta gradualmente en el período neonatal, lo que plantea la posibilidad de que el suministro de obestatina a través de la LM ya no sea necesario (90).

CONCLUSIONES

- La concentración de insulina sérica y de la leche materna fue mayor en las mujeres con adiposidad no saludable.
- La insulina de la leche materna proveniente de mujeres con %MG saludable y no saludable, muestran mayor concentración en comparación con la insulina sérica.
- La concentración de insulina en la leche humana se mantuvo similar durante el primer mes de lactancia tanto en mujeres con adiposidad saludable y no saludable.
- Encontramos asociación positiva entre la insulina sérica y la secretada en la leche madura con el % de MG materna.
- La concentración de IGF 1 sérico y de la leche materna fue mayor en las mujeres con adiposidad no saludable.
- La concentración de IGF-1 en la leche de transición aumentó significativamente respecto al calostro y descendió en la leche madura de mujeres con adiposidad saludable. Mientras que la leche proveniente de mujeres con adiposidad no saludable se mantuvo elevada durante el primer mes de lactancia.
- Encontramos mayor concentración de IGF-1 en la leche materna en comparación con los niveles sanguíneos tanto en mujeres con adiposidad saludable y no saludable.
- Encontramos asociación positiva entre el IGF1 sérico y el secretado en la leche madura con el % de MG materna.
- Los lactocitos del calostro, leche de transición y leche madura expresan el gen **IGF-1** . Manteniendo expresión durante el primer mes de lactancia
- Encontramos mayor concentración de obestatina en la leche materna en comparación con los niveles plasmáticos tanto en mujeres con adiposidad saludable y no saludable.
- La secreción de obestatina en el grupo mujeres con adiposidad saludable disminuyó de manera lineal del calostro a la leche de transición y a la leche madura. Mientras que, en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable, se mantuvo constante del calostro a la leche de transición y disminuyó significativamente en la leche madura.

- Observamos correlación negativa entre la obestatina plasmática y la secretada en la leche madura y el % de MG materno al mes postparto.
- La concentración de obestatina del plasma sanguíneo y de la leche materna fue menor en el grupo de mujeres con adiposidad no saludable.



Figura 15. Diferencias en la concentración de hormonas séricas y secretadas en la LM en mujeres con diferente % MG.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1) World Health Organization (WHO) (2020). <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. [Último acceso: 17/04/2020].
- 2) Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación (FAO) (2022) <https://www.fao.org/3/cb2369es/cb2369es.pdf>
- 3) Barquera S, Campos NI, Hernández BL, Pedroza TA, Rivera DJ. Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT 2012. Salud Pública Méx (2013); 55(suppl 2):151-160.
- 4) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 (ENSANUT 2018) https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf
- 5) Soma-Pillay, P., Nelson-Piercy, C., Tolppanen, H., & Mebazaa, A. (2016). Physiological changes in pregnancy: review articles. Cardiovascular Journal of Africa, 27(2), 89-94.
- 6) Roura, L. C. (2007). Obstetricia y medicina materno-fetal. Ed. Médica Panamericana.p. 225–229.
- 7) Colomiere, M., Permezel, M., & Lappas, M. (2010). Diabetes and obesity during pregnancy alter insulin signalling and glucose transporter expression in maternal skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. Journal of Molecular Endocrinology, 44(4), 213-23.
- 8) World Health Organization (WHO) (2021) https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1 [Último acceso: 09/06/22].
- 9) Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human milk composition: nutrients and bioactive factors. Pediatric Clinics, 60(1), 49-74.

- 10) United Nations International Children's Emergency Fund (UNICEF) (2020). <https://data.unicef.org/topic/nutrition/breastfeeding/> [Último acceso: 09/06/22].
- 11) Badillo-Suárez, P. A., Rodríguez-Cruz, M., & Nieves-Morales, X. (2017). Impact of metabolic hormones secreted in human breast milk on nutritional programming in childhood obesity. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 22(3), 171-191.
- 12) Albuquerque, D., Stice, E., Rodríguez-López, R., Manco, L., & Nóbrega, C. (2015). Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. *Molecular genetics and genomics*, 290(4), 1191-1221.
- 13) Alfaradhi, M. Z., & Ozanne, S. E. (2011). Developmental programming in response to maternal overnutrition. *Frontiers in genetics*, 2, 27.
- 14) Gridneva, Z., Kuganathan, S., Hepworth, A. R., Tie, W. J., Lai, C. T., Ward, L. C., & Geddes, D. T. (2016). Effect of human milk appetite hormones, macronutrients, and infant characteristics on gastric emptying and breastfeeding patterns of term fully breastfed infants. *Nutrients*, 9(1), 15.
- 15) Ross, M. G., & Desai, M. (2014). Developmental programming of appetite/satiety. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 64(Suppl. 1), 36-44.
- 16) Consejo Nacional de Poblaciones (CONAPO) <https://www.gob.mx/conapo/articulos/3-de-agosto-dia-internacional-de-la-planificacion-familiar?idiom=es>
- 17) Savino, F., Liguori, S. A., Fissore, M. F., & Oggero, R. (2009). Breast milk hormones and their protective effect on obesity. *International Journal of pediatric endocrinology*, 2009(1), 1-8.

- 18) Oakes, S. R., Rogers, R. L., Naylor, M. J., & Ormandy, C. J. (2008). Prolactin regulation of mammary gland development. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 13(1), 13-28.
- 19) Johnson, M. C. (2010). Anatomy and physiology of the breast. In *Management of breast diseases* (pp. 1-36). Springer, Berlin, Heidelberg.
- 20) Boutinaud, M., & Guinard-Flament, J. (2004). The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production. *Reproduction Nutrition Development*, 44(5), 499-508.
- 21) Laurence, R. A., & Laurence, R. M. (2007). *Lactancia materna: una guía para la profesión médica*. pp: 64-66.
- 22) Calana J. In P. C. Aguayo J., Gómez A., Hernández T., Lasarte T., Lozano J. (Ed.) (2008). *Manual de Lactancia Materna de la teoría a la práctica* (Panamerica, pp. 61–66). España.
- 23) Valdés, V., & Pérez, A. (2015). *Fisiología de la glándula mamaria y lactancia*. UNICEF Chile.
- 24) López, B. E., Cárdenas, D. L., & Quintero-Laverde, J. N. (2014). Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en la alimentación del lactante: cuantificación de éstos en algunas fórmulas lácteas para bebés de 0 a 6 meses, comercializadas en la ciudad de Medellín, 2012. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 32(3), 322-331.
- 25) Diaz, J., dos Santos, E., Yannelli, A., Llaver, C., Argés, L., Vega, P., & Sosa, P. (2016). *Composición de ácidos grasos en los lípidos de leche humana de madres lactantes donantes del Banco de Leche Humana, Hospital Lagomaggiore, Mendoza*.

- 26) Koletzko, B. (2016). Lípidos de la leche materna. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 69(2), 28-40.
- 27) González-Jiménez, E., & Schmidt Río-Valle, J. (2012). Regulación de la ingesta alimentaria y del balance energético: factores y mecanismos implicados. *Nutrición hospitalaria*, 27(6), 1850-1859.
- 28) Zeltser, L. M. (2018). Feeding circuit development and early-life influences on future feeding behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(5), 302-316.
- 29) Jovanovic-Peterson, L., Fuhrmann, K., Hedden, K., Walker, L., & Peterson, C. M. (1989). Maternal milk and plasma glucose and insulin levels: studies in normal and diabetic subjects. *Journal of the American College of Nutrition*, 8(2), 125-131.
- 30) Llamas-Covarrubias, I. M., del Sagrario, R. S. L., Anaís, L. C. M., Rivera-León, E. A., & Sánchez-Enríquez, S. (2015). Efectos de la grelina y la obestatina en la salud y la enfermedad. *Revista Médica MD*, 6(3), 196-208.
- 31) Cowan, E., Burch, K. J., Green, B. D., & Grieve, D. J. (2016). Obestatin as a key regulator of metabolism and cardiovascular function with emerging therapeutic potential for diabetes. *British Journal of Pharmacology*, 173(14), 2165-2181.
- 32) Stanley, T. L., Feldpausch, M. N., Murphy, C. A., Grinspoon, S. K., & Makimura, H. (2014). Discordance of IGF-1 and GH stimulation testing for altered GH secretion in obesity. *Growth Hormone & IGF Research*, 24(1), 10-15.
- 33) Beckett, P. R., Wong, W. W., & Copeland, K. C. (1998). Developmental changes in the relationship between IGF-I and body composition during puberty. *Growth Hormone & IGF Research*, 8(4), 283-288.
- 34) Wang, Y., & Lobstein, T. I. M. (2006). Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *International Journal of pediatric obesity*, 1(1), 11-25.

- 35) Picciano, M. F. (2001). Nutrient composition of human milk. *Pediatric Clinics of North America*, 48(1), 53-67.
- 36) Ley, S. H., O'Connor, D. L., Retnakaran, R., Hamilton, J. K., Sermer, M., Zinman, B., & Hanley, A. J. (2010). Impact of maternal metabolic abnormalities in pregnancy on human milk and subsequent infant metabolic development: methodology and design. *BMC Public Health*, 10(1), 1-10.
- 37) Leghi, G. E., Netting, M. J., Middleton, P. F., Wlodek, M. E., Geddes, D. T., & Muhlhausler, A. (2020). The impact of maternal obesity on human milk macronutrient composition: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 12(4), 934.
- 38) Barbosa, L., Butte, N. F., Villalpando, S., Wong, W., & Smith, E. O. (1997). Maternal energy balance and lactation performance of Mesoamerindians as a function of body mass index. *The American Journal of clinical nutrition*, 66(3), 575-583.
- 39) Fujimori, M., França, E. L., Fiorin, V., Morais, T. C., Honorio-França, A. C., & de Abreu, L. C. (2015). Changes in the biochemical and immunological components of serum and colostrum of overweight and obese mothers. *BMC pregnancy and childbirth*, 15(1), 1-8
- 40) Jans, G., Devlieger, R., De Preter, V., Ameye, L., Roelens, K., Lannoo, M., & Matthys, C. (2018). Bariatric surgery does not appear to affect women's breast-milk composition. *The Journal of nutrition*, 148(7), 1096-1102.
- 41) Dritsakou, K., Liosis, G., Valsami, G., Polychronopoulos, E., & Skouroliakou, M. (2017). The impact of maternal-and neonatal-associated factors on human milk's macronutrients and energy. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 30(11), 1302-1308.

- 42) Gridneva, Z., Tie, W. J., Rea, A., Lai, C. T., Ward, L. C., Murray, K., Hartmann, P. E., & Geddes, D. T. (2018). Human Milk Casein and Whey Protein and Infant Body Composition over the First 12 Months of Lactation. *Nutrients*, 10(9), 1332.
- 43) Bzikowska-Jura, A., Czerwonogrodzka-Senczyna, A., Olędzka, G., Szostak-Węgierek, D., Weker, H., & Wesołowska, A. (2018). Maternal nutrition and body composition during breastfeeding: association with human milk composition. *Nutrients*, 10(10), 1379.
- 44) Aleali, F., Fallahi, M., Kazemian, M., Fakhraee, S. H., & Afjeh, A. (2018). Longitudinal Changes in the Macronutrient Contents of Breast Milk in the Mothers with Preterm Delivery. *Iranian Journal of Neonatology*, 9(1).
- 45) Mangel, L., Mimouni, F. B., Feinstein-Goren, N., Lubetzky, R., Mandel, D., & Marom, R. (2017). The effect of maternal habitus on macronutrient content of human milk colostrum. *Journal of Perinatology*, 37(7), 818-821.
- 46) Goldman, A. S. (2000). Modulation of the gastrointestinal tract of infants by human milk. Interfaces and interactions. An evolutionary perspective. *The Journal of nutrition*, 130(2), 426S-431S.
- 47) Plagemann A, Harder T. Breast-feeding and the risk of obesity and related metabolic diseases in the child. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. 2005;3(3):222–232.
- 48) Ahuja Suman, Mallory, B., Sybil L, H., Carmen, R. S., Julian E, S., Barbara C, P., & Barbara G, S. (2011). Glucose and insulin levels are increased in obese and overweight mothers' breast-milk. *Food and Nutrition Sciences*, 2011.
- 49) Young, B. E., Patinkin, Z., Palmer, C., de La Houssaye, B., Barbour, L. A., Hernandez, T., & Krebs, N. F. (2017). Human milk insulin is related to maternal

- plasma insulin and BMI: but other components of human milk do not differ by BMI. *European Journal of clinical nutrition*, 71(9), 1094-1100.
- 50) Fields, D. A., & Demerath, E. W. (2012). Relationship of insulin, glucose, leptin, IL-6 and TNF- α in human breast milk with infant growth and body composition. *Pediatric obesity*, 7(4), 304-312.
- 51) Cheema, A. S., Stinson, L. F., Rea, A., Lai, C. T., Payne, M. S., Murray, K., ... & Gridneva, Z. (2021). Human milk lactose, insulin, and glucose relative to infant body composition during exclusive breastfeeding. *Nutrients*, 13(11), 3724.
- 52) Aydin, S., Ozkan, Y., Erman, F., Gurates, B., Kilic, N., Colak, R., & Sahn, I. (2008). Presence of obestatin in breast milk: relationship among obestatin, ghrelin, and leptin in lactating women. *Nutrition*, 24(7-8), 689-693.
- 53) Savino, F., Benetti, S., Lupica, M. M., Petrucci, E., Palumeri, E., & Di Montezemolo, L. C. (2012). Ghrelin and obestatin in infants, lactating mothers and breast milk. *Hormone Research in Paediatrics*, 78(5-6), 297-303.
- 54) Milsom, S. R., Blum, W. F., & Gunn, A. J. (2008). Temporal changes in insulin-like growth factors I and II and in insulin-like growth factor binding proteins 1, 2, and 3 in human milk. *Hormone Research in Paediatrics*, 69(5), 307-311.
- 55) Khodabakhshi, A., Ghayour-Mobarhan, M., Rooki, H., Vakili, R., Hashemy, S. I., Mirhafez, S. R., ... & Safarian, M. (2015). Comparative measurement of ghrelin, leptin, adiponectin, EGF and IGF-1 in breast milk of mothers with overweight/obese and normal-weight infants. *European Journal of clinical nutrition*, 69(5), 614-618.
- 56) Kon, I. Y., Shilina, N. M., Gmoshinskaya, M. V., & Ivanushkina, T. A. (2014). The study of breast milk IGF-1, leptin, ghrelin and adiponectin levels as possible reasons

- of high weight gain in breast-fed infants. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 65(4), 317-323.
- 57) Guler, T. T., Koc, N., Uzun, A. K., & Fisunoglu, M. (2021). The association of pre-pregnancy BMI on leptin, ghrelin, adiponectin and insulin-like growth factor-1 in breast milk: a case–control study. *British Journal of Nutrition*, 1-7.
- 58) Andreas, N. J., Hyde, M. J., Herbert, B. R., Jeffries, S., Santhakumaran, S., Mandalia, S., & Modi, N. (2016). 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*, 6(7), e010778.
- 59) Preusting, I., Brumley, J., Odibo, L., Spatz, D. L., & Louis, J. M. (2017). Obesity as a predictor of delayed lactogenesis II. *Journal of Human Lactation*, 33(4), 684-691.
- 60) Gába, A., & Přidalová, M. (2014). Age-related changes in body composition in a sample of Czech women aged 18–89 years: a cross-sectional study. *European Journal of nutrition*, 53(1), 167-176.
- 61) Zhao, F. Q. (2014). Biology of glucose transport in the mammary gland. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 19(1), 3-17.
- 62) Widen, E. M., & Gallagher, D. (2014). Body composition changes in pregnancy: measurement, predictors and outcomes. *European Journal of clinical nutrition*, 68(6), 643-652.
- 63) Freeman, D. J. (2010). Effects of maternal obesity on fetal growth and body composition: implications for programming and future health. In *Seminars in fetal and neonatal medicine* (Vol. 15, No. 2, pp. 113-118).
- 64) Yu, X., Rong, S. S., Sun, X., Ding, G., Wan, W., Zou, L., ... & Wang, D. (2018). Associations of breast milk adiponectin, leptin, insulin and ghrelin with maternal

- characteristics and early infant growth: a longitudinal study. *British Journal of Nutrition*, 120(12), 1380-1387.
- 65) Schneider-Worthington, C. R., Bahorski, J. S., Fields, D. A., Gower, B. A., Fernández, J. R., & Chandler-Laney, P. C. (2021). Associations among maternal adiposity, insulin, and adipokines in circulation and human milk. *Journal of Human Lactation*, 37(4), 714-722.
- 66) Neville, M. C., Webb, P., Ramanathan, P., Mannino, M. P., Pecorini, C., Monks, J., ... & MacLean, P. (2013). The insulin receptor plays an important role in secretory differentiation in the mammary gland. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 305(9), E1103-E1114.
- 67) Henquin, J. C., & Nenquin, M. (2018). Immaturity of insulin secretion by pancreatic islets isolated from one human neonate. *Journal of diabetes investigation*, 9(2), 270-273.
- 68) Indrio, F., Neu, J., Pettoello-Mantovani, M., Marchese, F., Martini, S., Salatto, A., & Aceti, A. (2022). Development of the Gastrointestinal Tract in Newborns as a Challenge for an Appropriate Nutrition: A Narrative Review. *Nutrients*, 14(7), 1405.
- 69) Schindler T., Cardenas J., Prior J., Facta A., Kreissl M., Zhang X., Sayre J., Dahlbom M., Licinio J., Schelbert. (2006). Relationship between increasing body weight, insulin resistance, inflammation, adipocytokine leptin, and coronary circulatory function. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(6):1188–1195.
- 70) Kampmann, U., Knorr, S., Fuglsang, J., & Ovesen, P. (2019). Determinants of maternal insulin resistance during pregnancy: an updated overview. *Journal of diabetes research*, 2019.

- 71) Ellsworth, L., Perng, W., Harman, E., Das, A., Pennathur, S., & Gregg, B. (2020). Impact of maternal overweight and obesity on milk composition and infant growth. *Maternal & child nutrition*, 16(3), e12979.
- 72) Shamir, R., & Shehadeh, N. (2013). Insulin in human milk and the use of hormones in infant formulas. *The importance of immunonutrition*, 77, 57-64.
- 73) Chan, D., Goruk, S., Becker, A. B., Subbarao, P., Mandhane, P. J., Turvey, S. E., ... & Azad, M. B. (2018). Adiponectin, leptin and insulin in breast milk: associations with maternal characteristics and infant body composition in the first year of life. *International Journal of obesity*, 42(1), 36-43.
- 74) Sims, C. R., Lipsmeyer, M. E., Turner, D. E., & Andres, A. (2020). Human milk composition differs by maternal BMI in the first 9 months postpartum. *The American Journal of clinical nutrition*, 112(3), 548-557.
- 75) Ripa, P., Robertson, I., Cowley, D., Harris, M., Masters, I. B., & Cotterill, A. M. (2002). The relationship between insulin secretion, the insulin-like growth factor axis and growth in children with cystic fibrosis. *Clinical endocrinology*, 56(3), 383-389.
- 76) Ruiz León, María del Rosario (2018). Asociación entre la insulina secretada en la leche materna y la insulina sérica con la masa grasa corporal de mujeres primigestas con diferente estado nutricional [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química
- 77) Dearden, L., Bouret, S. G., & Ozanne, S. E. (2021). Nutritional and development programming effects of insulin. *Journal of Neuroendocrinology*, 33(4), e12933.
- 78) Zhang, D. L., Du, Q., Djemli, A., Julien, P., Fraser, W. D., & Luo, Z. C. (2017). Early and late postnatal accelerated growth have distinct effects on metabolic health in normal birth weight infants. *Frontiers in Endocrinology*, 8, 340.

- 79) Lewitt, M. S. (2017). The role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in visceral adiposity. *Biochemistry Insights*, 10, 1178626417703995.
- 80) Nieves- Morales X. (2017). Perfil de expresión génica de hormonas reguladoras de la ingesta alimenticia en lactocitos de mujeres durante la lactancia [Tesis Licenciatura] Universidad Nacional Autónoma de México, FES-Iztacala
- 81) Lewitt, M., Dent, M., & Hall, K. (2014). The insulin like growth factor system in obesity, insulin resistance and Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Medicine*, 3(4), 1561–1574.
- 82) Ha, W. T., Jeong, H. Y., Lee, S. Y., & Song, H. (2016). Effects of the insulin-like growth factor pathway on the regulation of mammary gland development. *Development & Reproduction*, 20(3), 179–185.
- 83) Galante, L., Pundir, S., Lagström, H., Rautava, S., Reynolds, C. M., Milan, A. M., ... & Vickers, M. H. (2020). Growth factor concentrations in human milk are associated with infant weight and BMI from birth to 5 years. *Frontiers in Nutrition*, 7, 110.
- 84) Nakahara, T., Harada, T., Yasuhara, D., Shimada, N., Amitani, H., Sakoguchi, T., ... & Inui, A. (2008). Plasma obestatin concentrations are negatively correlated with body mass index, insulin resistance index, and plasma leptin concentrations in obesity and anorexia nervosa. *Biological psychiatry*, 64(3), 252-255.
- 85) Figen, C. C., Noyan, T., & Özdemir, Ö. (2020). The investigation effect of weight loss on serum vaspin, apelin-13, and obestatin levels in obese individual. *Turkish Journal of Biochemistry*, 45(6), 725-735.
- 86) Gila-Diaz, A., Arribas, S. M., Algara, A., Martín-Cabrejas, M. A., López de Pablo, A. L., Sáenz de Pipaón, M., & Ramiro-Cortijo, D. (2019). A review of bioactive factors in human breastmilk: A focus on prematurity. *Nutrients*, 11, 1307

- 87) Fontenot, E., DeVente, J. E., & Seidel, E. R. (2007). Obestatin and ghrelin in obese and in pregnant women. *Peptides*, 28(10), 1937-1944.
- 88) Slupecka-Ziemilska, M., Wolinski, J., Herman, A. P., Romanowicz, K., Dziegielewska, Z., & Borszewska-Kornacka, M. K. (2017). Influence of preterm delivery on ghrelin and obestatin concentrations in maternal plasm, milk and their expression in mammary epithelial cells. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 68, 693-698.
- 89) Zhang, S., Zhai, G., Zhang, J., Zhou, J., & Chen, C. (2014). Ghrelin and obestatin plasma levels and ghrelin/obestatin prepropeptide gene polymorphisms in small for gestational age infants. *Journal of international medical research*, 42(6), 1232-1242.
- 90) Hassouna, R., Zizzari, P., & Tolle, V. (2010). The ghrelin/obestatin balance in the physiological and pathological control of growth hormone secretion, body composition and food intake. *Journal of neuroendocrinology*, 22(7), 793-804
- 91) Hall L., Emery D., Davies M., Parker D., Craig R. (1982). Organization and sequence of the human α -lactalbumin gene. *Journal of Biochemistry*, 242, 735-742.
- 92) Lönnerdal B. (2016). Bioactive Proteins in Human Milk: Health, Nutrition, and Implication for Infant Formulas. *Journal Pediatrics*, 173, 4–9.
- 93) Hawkes, C. P., Grimberg, A., Kenny, L. C., Kiely, M., Hourihane, J. O., Irvine, A. D., ... & Murray, D. M. (2019). The relationship between IGF-I and-II concentrations and body composition at birth and over the first 2 months. *Pediatric research*, 85(5), 687-692.




ANEXO 1. ARTICULO REQUISITO (ARTICULO REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO)

Original Research



Influence of Maternal Body Fat on Levels of Insulin, Insulin-Like Growth Factor-I, and Obestatin

Journal of Human Lactation
2022, Vol. 38(4) 619–632
© The Author(s) 2022
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/08903344221112946
journals.sagepub.com/home/jhl
SAGE

Pilar A. Badillo-Suárez, MSc^{1,2,3} , Maricela Rodríguez-Cruz, PhD¹ ,
Mariela Bernabe-García, PhD¹ , Judith Villa-Morales, MSc¹,
Ricardo Iglesias-Rodríguez, MSc¹, Samuel Canizales-Quinteros, PhD⁴,
and Fairt V. Carmona-Sierra, MD⁵

Abstract

Background: Insulin, insulin-like Growth Factor-I (IGF-I), and obestatin in human milk originate from the circulation. There is also limited knowledge about the influence of body fat on the levels of these hormones in human milk.

Research Aim: To determine (1) the influence of body fat on levels of insulin, IGF-I, and obestatin in human milk and serum/plasma during the postpartum period; (2) the changes in the levels of these hormones in human milk and serum/plasma postpartum; and (3) the presence of IGF-I mRNA in human milk.

Methods: In this prospective, longitudinal, observational cohort study, levels of insulin, IGF-I, and obestatin were measured up to 30 days postpartum in milk and serum/plasma of 58 participants with adequate ($\leq 32\%$) or excess ($> 32\%$) total body fat determined by electrical bioimpedance. Student's *t* test and repeated-measures analysis of variance were used to evaluate the differences between groups. Pearson's test was used to analyze the associations.

Results: The milk from participants with excess body fat had higher insulin and IGF-I levels and lower obestatin levels than that of participants with adequate body fat at 3–7, 14–15, and 30 days postpartum (adjusted $p < .001$). The levels of insulin, IGF-I, and obestatin were significantly higher in human milk than in serum/plasma ($p < .05$) and correlated with maternal body fat ($p < .001$).

Conclusions: Maternal body fat was associated with elevated insulin and IGF-I levels and decreased obestatin levels in human milk up to 30 days postpartum.

Resumen

Antecedentes: La insulina, el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I) y la obestatina de la leche humana provienen de circulación. Sin embargo, existe un conocimiento limitado sobre la influencia de la grasa corporal sobre la concentración de estas hormonas en la leche humana. **Objetivo de la investigación:** Determinar (1) la influencia de la grasa corporal sobre la concentración de insulina, IGF-I y obestatina en la leche humana y en el suero o plasma durante el periodo posparto, (2) los cambios en las concentraciones de esas hormonas en leche humana y en el suero o plasma, y (3) la presencia del RNAm de IGF-I en la leche humana. **Métodos:** En este estudio prospectivo, longitudinal, observacional y de cohorte, se midieron las concentraciones de insulina, IGF-I y obestatina hasta los 30 días después del parto en leche y en el suero o plasma de 58 participantes con masa grasa corporal total adecuada ($\leq 32\%$), o con exceso ($> 32\%$) mediante bioimpedancia eléctrica. Se utilizaron la prueba de *t* de Student y el análisis de varianza de mediciones repetidas para evaluar las diferencias entre grupos. La prueba de Pearson se aplicó para analizar las asociaciones. **Resultados:** La leche de las participantes con exceso de grasa corporal tenía concentraciones más elevadas de insulina y de IGF-I y concentraciones más bajas de obestatina que la leche de las participantes con grasa corporal adecuada a los 3–7, 14–15, y 30 días después del parto (p ajustada $< .001$). Las concentraciones de insulina y de IGF-I y obestatina fueron significativamente más altas en leche humana que en el suero o en el plasma ($p < .05$), además, se correlacionaron con la grasa corporal materna ($p < .001$). **Conclusiones:** La grasa corporal materna se asoció con concentraciones elevadas de insulina e IGF-I y con concentraciones reducidas de obestatina en la leche humana hasta los 30 días después del parto. Back translation by: Carmela K Baeza, MD, IBCLC

Keywords

breastfeeding, evidence-based management, experiential learning, in-class exercises, management education, organizational behavior, organizational justice

Background

Human milk (HM) contains bioactive compounds, including insulin, obestatin, and insulin-like growth factor 1 (IGF-1; Gila-Diaz et al., 2019). Elevated insulin levels in HM have been suggested to negatively influence infant growth (weight-for-age and head circumference-for-age) and body composition in the first 6 months of life (Chan et al., 2018; Ellsworth et al., 2020). However, the role of insulin in HM for infant development has not been completely elucidated. The maternal phenotype may play a role in determining the levels of insulin in HM; for instance, the HM insulin level has been positively correlated with the maternal body mass index (BMI; Cheema et al., 2021) and maternal body fat level at 1 month postpartum (Schneider-Worthington et al., 2020).

Elevated IGF-1 levels in cord blood and HM have been shown to adversely affect infant health (Patel et al., 2018), indicating the key role of IGF-1 in infant growth. Although IGF-1 is present in HM (Eriksen et al., 2018), its function is unknown. IGF-1 levels in HM increase between the 1st and 8th week after parturition (Corps et al., 1988), and its synthesis in mammary tissues could partly explain this increase. In addition, IGF-1 levels are influenced by obesity (Kemp et al., 2021).

Obestatin has also been found in HM; its levels in HM are higher than those in the bloodstream (Aydin et al., 2008). However, this hormone is synthesized by the human mammary gland (Kratzsch et al., 2018). Obestatin in HM has been suggested to regulate the newborn's appetite and body weight (Gila-Diaz et al., 2019). Additionally, obestatin is an anorexigenic hormone that favors gastric emptying (Aly et al., 2020), and its circulating levels are reduced in obese individuals (Figen et al., 2020).

Insulin (Janssen, 2021), IGF-1 (Kemp et al., 2021), and obestatin (Figen et al., 2020) are associated with obesity; thus, we hypothesized that maternal body fat can affect the circulating levels of these hormones. As the mammary gland uptakes these hormones from the bloodstream, HM of obese mothers might contain varied levels of these hormones, resulting in adverse effects on the infant's nutrition, which could be a mechanism wherein the maternal obesity phenotype is communicated to the offspring via HM, consequently increasing the risk of obesity in the child. Schneider-Worthington et al. (2020) reported a positive association

Key Messages

- There is limited knowledge on the influence of maternal body fat on the levels of these hormones in human milk.
- Maternal adiposity correlates with elevated levels of insulin and IGF-1 level and decreased levels of obestatin in human milk.
- Insulin levels in human milk were unchanged, whereas those of obestatin gradually decreased in both obese and non-obese mothers.
- Maternal body fat is associated with increased insulin and insulin-like Growth Factor-1 levels and decreased obestatin levels in human milk.

between maternal adiposity and insulin levels in HM. However, it is unknown whether obesity influences changes in the level of these hormones in HM postpartum. The presence of obestatin in HM can be traced to its synthesis in mammary tissues (Kratzsch et al., 2018); however, whether mammary tissues also synthesize IGF-1 remains unknown.

We hypothesized that insulin and IGF-1 levels would be positively associated with maternal body fat, whereas obestatin would be negatively associated. Additionally, levels of these hormones would be higher in HM than in serum/plasma and would decrease over time up to 30 days postpartum. Furthermore, IGF-1 mRNA would be found in HM. Thus, our aims were to determine (1) the influence of body fat on levels of insulin, IGF-1, and obestatin in HM and serum/plasma during the postpartum period; (2) the changes in the levels of these hormones in HM and serum/plasma postpartum; and (3) the presence of IGF-1 mRNA in HM.

Methods

Research Design

This was a prospective, longitudinal, observational cohort study to determine the insulin, IGF-1, and obestatin levels in HM over time postpartum. The Institutional Review Board for Human Use at the Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) reviewed and approved this study (approval number: R-2015-785-046 and date of approval: June 1, 2015).

¹Laboratorio de Nutrición Molecular, Unidad de Investigación Médica en Nutrición (UIMN), Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI (CMN-SXXI), Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Mexico City, Mexico

²Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, Mexico City, Mexico

³Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, Mexico City, Mexico

⁴Unidad de Genómica de Poblaciones Aplicada a la Salud, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México/Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), Mexico City, Mexico

⁵Unidad de Medicina Familiar Number 4, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Mexico City, Mexico

Date submitted: December 8, 2021; Date accepted: June 13, 2022.

Corresponding Author:

Maricela Rodríguez-Cruz, MSc, PhD, Unidad de Investigación Médica em Nutrición, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc No. 330, Colonia Doctores, Alcaldía Cuauhtémoc, Ciudad de México (CDMX), 06725, México.
Email: maricela.rodriguez.cruz@gmail.com

Setting and Relevant Context

The cohort was comprised of Mexican Mestizos living in Mexico City or nearby towns. The Mexican Mestizo population is a mix between Native American and European (predominantly Spanish) populations. Since the last century, Mexico City has seen several waves of immigration, with people from around the country eventually residing there; thus, Mexican Mestizos from Mexico City can be considered representative of the overall Mexican population.

The socioeconomic status of most of the population of Mexico City is middle and lower class. Among the 25 countries in Latin America, Mexico has one of the lowest rates of breastfeeding (28.8%). Therefore, the IMSS, which is the institution that assists with the medical services of 68.6 million Mexican employees, initiated a government-funded and promoted program called Program of Educational Strategies for Health during Pregnancy and Lactation to increase the breastfeeding rate.

Sample

A total of 210 pregnant women participated in the Program of Educational Strategies for Health during Pregnancy and Lactation. Our study cohort comprised pregnant mothers who participated in this program and were recruited from three Baby Friendly designated Familiar Medicine Units from IMSS. Additionally, mothers received brochures containing information about the health benefits of breastfeeding for both mothers and babies and the recommended breastfeeding positions. Candidate participants provided their phone numbers and regularly updated us on the progress of their pregnancy, delivery date, and scheduled home visits. Certified lactation support providers, nurses, or nutritionists offered support through phone calls to participants who requested lactation assistance. Mothers were eligible for inclusion in this study if they were primiparous, aged 18–35 years (there is a marked decrease in female fertility after 35 years of age; García et al., 2018), had an uncomplicated pregnancy, delivered at term, and delivered a singleton infant weighing $\geq 2,500$ g. Of the possible participants, 107 agreed to participate in our study. However, 27 did not meet the inclusion criteria; two women had a twin pregnancy, seven were aged > 35 years, seven were non-primiparous mothers, five elected non-exclusive breastfeeding, and six planned to move to another city after the postpartum period. Of the remaining 80 participants who signed the informed consent form, 22 (27.5%) were lost to follow-up owing to complications during delivery (including pre-eclampsia, preterm delivery, death of the newborn, birth weight $< 2,500$ g, or a hospital stay of > 7 days), diagnosis of a maternal disease (e.g., gestational diabetes), or refusal to continue their participation. Thus, 58 lactating participants were included in the final analysis and were stratified according to their total body fat into two groups: participants with adequate total body fat (MATBF, $\leq 32\%$, $n = 28$) and participants with excess total body fat (METBF, $> 32\%$, $n = 30$;

Figure 1). The cut-off points for maternal body fat have been previously used for healthy and obese females (Garrison et al., 2019).

The 38 participants in both groups were estimated to provide 80% of the study power to identify a difference of 25.6 in insulin level ($\mu\text{U}/\text{ml}$) in HM with a mean (*SD*) of 56.3 and a level of significance of $> .05$ (Ahuja, 2011). However, the interim data analysis (MATBF, $n = 28$; METBF, $n = 30$) revealed significant differences in all variables analyzed.

Measurement

Data, including participants' age, height, pre-pregnancy body weight, sex of the infant, and body weight and length at birth of the infant, were obtained by a nutritionist via a questionnaire the authors had created (see Supplementary Material Questionnaire). The milk samples were mixed, and 1-ml aliquots were centrifuged for 10 min at 13,000 rpm at 4 °C using a refrigerated centrifuge Allegra X-22 (Beckman Coulter Co., Ltd., USA). The fat was removed, and 500 μl of skimmed milk was aliquoted. The blood samples were centrifuged for 10 min at 10,000 rpm at 4 °C, and the serum and plasma were separated. All samples were stored at -70 °C for subsequent glucose and hormone analyses. Glucose in the serum was quantified using the glucose-oxidase enzymatic method. Insulin is a hormone that plays a role in energy homeostasis, appetite regulation, and glucose and fat metabolism (Schneider-Worthington et al., 2020). IGF-1 influences the anabolic and mitogenic activities of growth hormone to regulate fat, protein, and glucose metabolism (AsghariHanjani & Vafa, 2019). Both molecules were quantified by an enzyme-linked immunosorbent assay. Obestatin, which is an anorexigenic hormone that reduces food intake and regulates weight gain and gastric emptying by suppressing intestinal motility (Gila-Diaz et al., 2019), was analyzed by an enzyme immunoassay in the serum or plasma and HM, using a commercial kits as described in the Supplementary Material.

In addition, the presence of IGF-1 mRNA in HM fat was analyzed by quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction. Casein and α -lactalbumin transcripts were employed as genes for specific epithelial mammary cell expression (described in Supplementary Material).

Maternal adipose tissue, which is defined as passive fat from the mother, is a type of heterogeneous tissue that strongly contributes to energy homeostasis and possesses complex secretory functions related to nutritional status; thus, it is recognized as an active endocrine organ. In this study, the amount of maternal adipose tissue was measured by bioelectrical impedance analysis (BIA; Di Zazzo et al., 2019). The BMI was defined as the body weight in kg divided by the square of the height in meters.

Measurement of Total Body Fat Composition

Maternal anthropometry and total body fat as well as the newborn's body weight and length were determined by

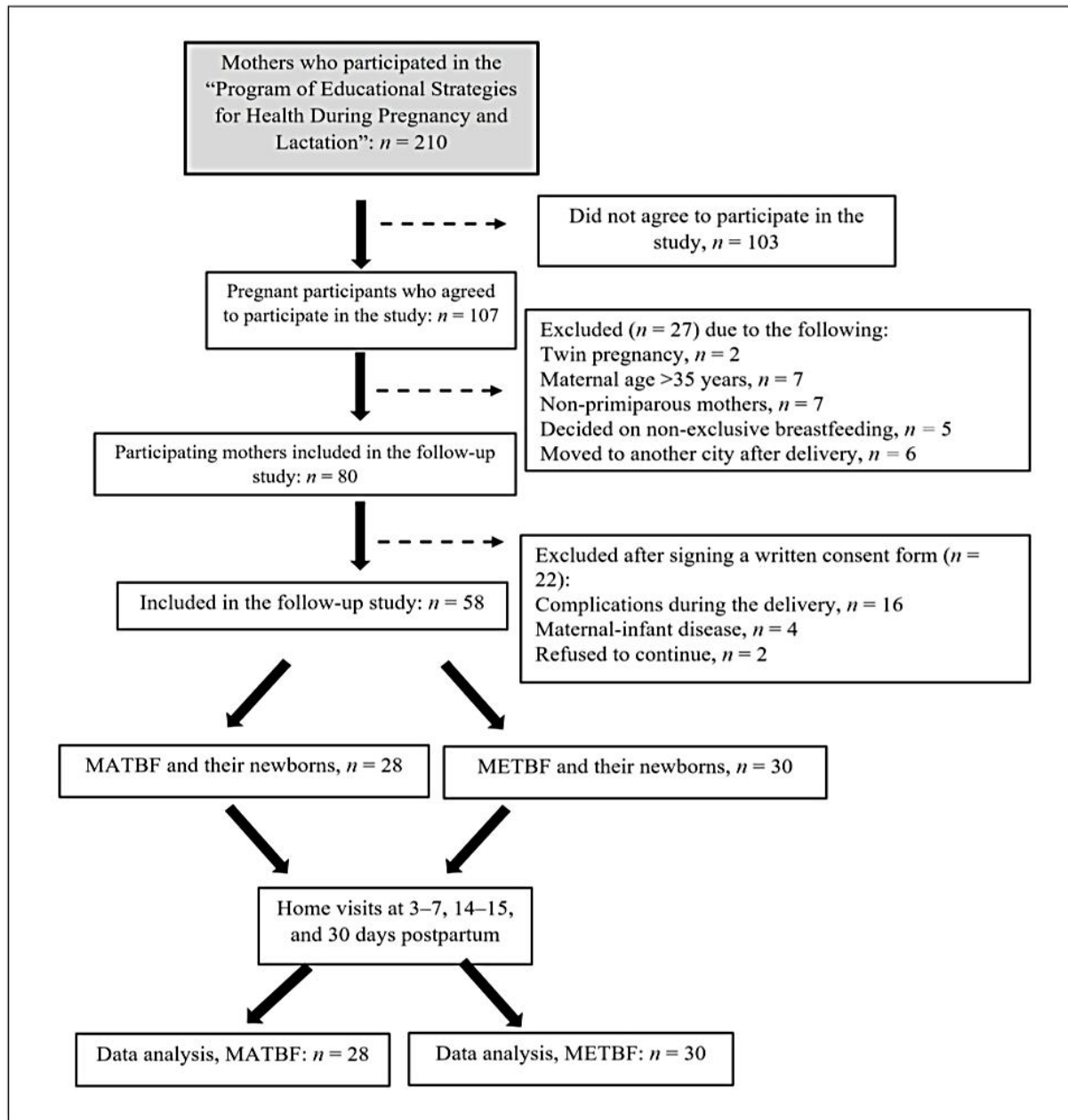


Figure 1. Flow Diagram of the Participants.

Note. MATBF = mothers with adequate total body fat ($\leq 32\%$); METBF = mothers with excess total body fat ($> 32\%$).

trained personnel using standardized procedures. The total body fat was assessed using calibrated foot-to-foot BIA (FF-BIA) using the Tanita FitScan Body Composition (BC-585F; IL, USA). The device, which has a single

frequency with two electrodes placed on the feet, only assesses impedance in the lower limbs. Electrodes are contained in a glass platform; thus, care was taken to ensure that the ankles of the participants were correctly aligned. This

device, which is sensitive enough to measure in increments of 0.1 kg, was also used to determine the total body weight. The sex, age, and height of each participant were determined and recorded by the operator. The soles of the mothers' feet were cleaned with 75% alcohol in water, and participants were asked to step on the platform without shoes while ensuring that their clothing was not in contact with the scale. Measurements were performed in duplicate to ensure accuracy. After an overnight fast, participants were required to wear light clothing without shoes and to refrain from carrying metal objects. To precisely determine the total body fat percentage, a maximum difference of 1% was allowed between two measurements; if a difference of more than 1% was observed, a third measurement was performed.

The Tanita system determines the total body fat by measuring the voltage drop from foot-to-foot when a safe amount of alternating current is applied through contact with the two metal foot plates. The FF-BIA measures impedance against a small electrical current sent through the body, which is related to the conduction properties of the tissue. In FF-BIA, the current circulates in the legs and the lower part of the trunk. FF-BIA has already been validated for measuring body fat mass in different populations (Obuchowska et al., 2021). Moreover, in this study, the total body fat was measured at 30 days postpartum to eliminate the influence of fast fluid losses observed in the early postpartum stage (Schneider-Worthington et al., 2020). One portable device to measure the total body fat was used for all participants to control variations among devices. SF-BIA is a cheap, portable, and time-efficient device and requires minimal training.

The fat-free mass (FFM) in the body contains electrolyte-rich water and has relatively low impedance, whereas fat is devoid of fluids, having a higher impedance. The FFM is measured by extrapolation using the equation of resistance, weight, height, and sex, which are different between males and females and are validated against DXA measures (Obuchowska et al., 2021). The equation prediction for FFM in women used by the BIA foot-to-foot monitors is as follows:

$$\text{FFM (Kg)} = 13.96674 + 0.348613 \times \text{Ht}^2 / Z + 0.168998 \times \text{Wt}$$

Where Wt. is weight (kg), Ht. is height (m), and Z is impedance (Ω)

$$\text{Fat (\%)} = (\text{W}_t - \text{FFM}) / \text{W}_t \times 100$$

The weight and length of the infant were measured twice without clothes and diapers and before feeding by trained personnel using a calibrated digital scale that was sensitive enough to measure weight and length in increments of 1 g and 0.5 cm, respectively (Seca 334, Mobile digital baby scale, Hamburg, Germany). During the 2-week training

session, we ascertained the reliability and validity between measurements with a minimum of 90% agreement between the two.

Data Collection

We exclusively enrolled breastfeeding mothers between January 2016 and February 2018 who attended the Program of Educational Strategies for Health during Pregnancy and Lactation. During this program, the research team invited pregnant mothers to participate in the study and provided a copy of the consent form. Written informed consent was obtained from the participants by a member of the research team at the first home visit (3–7 days postpartum) and before performing any study procedure.

Three home visits were scheduled at 3–7 days, 14–15 days, and 30 days postpartum (Table 1). During the first visit, participants were asked to fill out a questionnaire to determine their demographic characteristics. At each visit thereafter, HM and venous blood samples were collected in a fasted state. HM samples were collected after standardizing the last nursing session at a similar time (between 8 a.m. and 9 a.m.) among participants, approximately 2–3 hr after the infant's previous complete breast expression. HM was contained in two sterile feeding bottles that were attached to an electric breast pump that simultaneously emptied both breasts. The milk was mixed manually to incorporate the fat, and a 5-ml sample was obtained and transferred into a sterile tube containing a protease inhibitor (25X, Complete Protease Inhibitor Cocktail; ROCHE, Germany) to prevent the hormones from being degraded. The remainder of the milk was fed to the infant. After a 10–12 hr overnight fast, two blood samples of 3 ml each were collected by venipuncture in a vacutainer tube; one sample was mixed with an anticoagulant (EDTA), and the other without EDTA to obtaining plasma and serum. Subsequently, a protease inhibitor was added. The HM and blood samples were transported to the laboratory in a container with ice.

The research team measured the maternal height and newborn body weight and length. Additionally, the maternal body weight and total body fat were assessed after a 12-hr overnight fast by electrical bioimpedance using a Tanita Body Composition analyzer at 30 days postpartum to eliminate the influence of fluid losses observed in the early postpartum stage (Schneider-Worthington et al., 2020). BMI was calculated based on the maternal height and weight.

The signed consent forms and questionnaires that contained information of participants, including names, telephone numbers, and addresses, were managed in a strictly private and confidential manner and were stored in a locked file cabinet in the principal investigator's locked office, to maintain confidentiality. The names of the participants were represented by a number to maintain anonymity. All electronic data were entered into secure files and were password-protected for use by authorized personnel only.

Table 1. Timeline for Variables Collected During Postpartum Home Visits (N = 58).

Variable	Days Postpartum					
	3–7		14–15		30	
<i>Mother</i>						
Source	Questionnaire					
	<ul style="list-style-type: none"> • Age • Height • Pre-pregnancy body weight 					
Source	Human milk	Venous blood	Human milk	Venous blood	Human milk	Venous blood
	<ul style="list-style-type: none"> • Insulin • IGF-I • Obestatin 	<ul style="list-style-type: none"> • Glucose • Insulin • IGF-I • Obestatin 	<ul style="list-style-type: none"> • Insulin • IGF-I • Obestatin 	<ul style="list-style-type: none"> • Glucose • Insulin • IGF-I • Obestatin 	<ul style="list-style-type: none"> • Insulin • IGF-I • Obestatin 	<ul style="list-style-type: none"> • Glucose • Insulin • IGF-I • Obestatin
Source	Anthropometry					
	<ul style="list-style-type: none"> • Body weight • Body composition • Total body mass 					
Source	Anthropometry					
	<ul style="list-style-type: none"> • Length • Body weight 					
<i>Infant</i>						
Source	Anthropometry		Anthropometry		Anthropometry	
	<ul style="list-style-type: none"> • Length • Body weight 		<ul style="list-style-type: none"> • Length • Body weight 		<ul style="list-style-type: none"> • Length • Body weight 	

Note. IGF-I = Insulin-like growth factor. Data collected at birth about the infant included sex, weight, and length.

Data Analysis

The distributions of demographic, anthropometric, and metabolic variables for the whole sample were determined using the Shapiro-Wilk test. The data were log-transformed (\log_{10}), and the distribution was verified to validate further test assumptions. Data are reported as mean (standard deviation [SD]).

Influence of Body Fat on Insulin, IGF-1, and Obestatin Levels in HM and Serum/Plasma. Student's *t* test or the Chi-square test was used to identify differences in the variables between the groups. Significant variables were further analyzed by repeated-measures analysis of variance (ANOVA) with Bonferroni post hoc tests for all pairwise comparisons using the general linear model to analyze changes in insulin, IGF-1, and obestatin in HM during the 1st month postpartum. To compare changes between the two groups stratified by total body fat, the serum analyte (e.g., insulin) at a certain time point (3–7, 14–15, and 30 days) and the maternal age were added as covariates of the corresponding milk analyte (e.g., milk insulin) in all models. Assumptions of repeated-measures ANOVA (i.e., equal variances of the means for dependent variables [$p > .05$]), Cook distance, and normal distribution were verified a priori. In addition to principal effects, two-sided hypotheses requesting interaction were used to determine insulin, IGF-1, and obestatin levels in HM, and 95% confidence intervals (CI) were computed for the repeated-measures ANOVA. Pearson's correlation matrix was used to

evaluate the correlation between adiposity and insulin, IGF-1, and obestatin levels measured in HM and serum/plasma at 30 days postpartum.

The paired *t* test was used to detect the differences in hormone levels between the serum and HM samples at each time point. To identify differences in the IGF-1 mRNA expression in HM over time postpartum, ANOVA was performed. Statistical significance was set at $p \leq .05$. Statistical analyses were performed using SPSS (Version 20).

Results

Characteristics of the Participants

The demographic and anthropometric characteristics of the participants are presented in Table 2. The METBF group was significantly older ($p = .005$) and had a significantly higher body weight and BMI at pre-gestation, 3–7 days, 14–15 days, and 30 days postpartum ($p < .001$) than the MATBF group. Although the serum glucose levels were similar between the two groups at 3–7 and 30 days postpartum, the METBF group had significantly higher ($p = .041$) serum glucose levels than the MATBF group at 14–15 days postpartum. The weight and length of children of the participants in both groups were similar at birth and throughout the 1st month of life. Additionally, the proportion of female (15 [54%] vs. 20 [67%], $p = .059$) and male (13 [46%] vs. 10 [33%], $p = .079$) infants was similar between the MATBF and METBF groups.

Table 2. Participants' Demographic and Anthropometric Variables Grouped by Amount of Body Fat ($N = 58$).

Variable	MATBF $n = 28$ (48.3%) M (SD)	METBF $n = 30$ (51.7%) M (SD)	t	p
Mother				
Age, years	24.3 (1.2)	28.0 (1.2)	-3.0	.005
Height, cm	158.0 (1.0)	160.0 (1.0)	-1.6	.106
Serum glucose, mg/dL				
3-7 d PP	71.5 (7.6)	73.7 (7.7)	-1.4	.181
14-15 d PP	75.3 (6.2)	78.7 (8.0)	-2.1	.041
30 d PP	79.5 (7.7)	79.8 (7.1)	-1.6	.876
Body weight, kg				
Pre-pregnancy	54.7 (1.1)	70.1 (1.2)	-5.8	< .001
3-7 d PP	58.5 (1.1)	75.9 (1.1)	-7.4	< .001
14-15 d PP	56.4 (1.1)	72.7 (1.1)	-7.2	< .001
30 d PP	55.3 (1.1)	71.4 (1.2)	-7.0	< .001
BMI, kg/m ²				
Pre-pregnancy	21.9 (1.1)	27.3 (1.2)	-6.1	< .001
3-7 d PP	23.5 (1.1)	29.6 (1.1)	-8.0	< .001
14-15 d PP	22.6 (1.1)	28.3 (1.1)	-7.8	< .001
30 d PP	22.2 (1.1)	27.8 (1.1)	-7.7	< .001
Body fat (%)				
30 d PP	26.3 (1.2)	37.9 (1.1)	-9.8	< .001
Infant				
Body weight by age				
Birth, kg	3.1 (1.1)	3.1 (1.1)	.41	.686
3-7 d kg	3.2 (1.1)	3.1 (1.1)	.67	.504
14-15 d kg	3.4 (1.1)	3.3 (1.1)	1.0	.314
30 d kg	4.2 (1.1)	4.0 (1.2)	1.2	.235
Length by age				
Birth, cm	49.7 (1.0)	50.1 (1.0)	-.98	.333
3-7 d cm	49.0 (1.0)	48.6 (1.0)	.98	.333
14-15 d cm	50.4 (1.0)	49.7 (1.0)	1.5	.152
30 d cm	53.0 (1.0)	52.3 (1.0)	1.6	.109

Note. MATBF = mothers with adequate total body fat ($\leq 32\%$), METBF = mothers with an excess total body fat ($> 32\%$); PP = postpartum; BMI = Body Mass Index.

Influence of Body Fat on Insulin, IGF-1, and Obestatin Levels in HM and Serum/Plasma Postpartum

At 3–7 days postpartum, the insulin level in HM was significantly higher in the METBF group than in the MATBF group ($p = .003$), whereas that in serum was not significantly different between the two groups ($p = .094$). The insulin levels at 14–15 days and 30 days postpartum in both HM and serum were significantly higher in the METBF group than in the MATBF group ($p < .001$; Table 3).

The IGF-1 level in both HM and serum were significantly higher in the METBF group than in the MATBF group at 3–7 ($p = .001$ for serum and $p < .001$ for HM), 14–15 ($p = .001$ for serum and $p < .001$ for HM), and 30 ($p = .007$ for serum and $p = .001$ for HM) days postpartum. In contrast, obestatin levels in both HM and plasma were significantly lower ($p <$

.001) in the METBF group than in the MATBF group at all three time points (Table 3).

According to the correlation analysis, at 30 days postpartum, maternal adiposity positively correlated with the serum and HM insulin levels (Figure 2A). Moreover, at the same time point, maternal adiposity positively correlated with the serum and HM IGF-1 levels (Figure 2B), whereas it negatively correlated with the plasma and HM (Figure 2C) obestatin levels.

Based on the repeated measures ANOVA results, the HM in the METBF group had higher insulin and IGF-1 levels but lower obestatin levels than in the MATBF group at 30 days postpartum after adjusting for covariates. The mean difference (MD) of these hormone levels in HM between the METBF and MATBF groups is shown in Table 4. The MD in HM across all time points was significantly different ($p \leq .005$).

Table 3. Changes in Human Milk and Serum Levels of Insulin, IGF-1, and Obestatin During Study (N = 58).

Time Periods	MATBF	METBF	t	p
	n = 28 (48.3%) M (SD)	n = 30 (51.7%) M (SD)		
PP 3 - 7 Days				
Serum insulin, $\mu\text{U/mL}$	9.3 (2.0)	11.5 (1.6)	-1.4	.094
Human milk insulin, $\mu\text{U/mL}$	12.6 (1.6)	18.9 (1.7)	-3.4	.003
Serum IGF-1, ng/mL	5.9 (5.0)	20.5 (4.8)	-2.9	.001
Human milk IGF-1, ng/mL	6.6 (5.9)	25.4 (3.6)	-3.3	< .001
Plasma obestatin, pg/mL	278.2 (1.1)	245.7 (1.1)	5.5	< .001
Human milk obestatin, pg/mL	570.6 (1.0)	544.7 (1.0)	5.4	< .001
PP 14-15 Days				
Serum insulin, $\mu\text{U/mL}$	8.5 (1.8)	15.1 (1.7)	-4.0	< .001
Human milk insulin, U/mL	12.2 (1.4)	17.3 (1.4)	-4.1	< .001
Serum IGF-1, ng/mL	11.6 (2.1)	23.9 (2.2)	-3.5	.001
Human milk IGF-1, ng/mL	15.7 (2.1)	36.2 (2.0)	-4.5	< .001
Plasma obestatin, pg/mL	278.9 (1.1)	242.5 (1.1)	5.9	< .001
Human milk obestatin, pg/mL	564.4 (1.0)	547.8 (1.0)	3.5	< .001
PP 30 Days				
Serum insulin, $\mu\text{U/mL}$	7.4 (1.9)	12.2 (1.7)	-3.2	.001
Human milk insulin, $\mu\text{U/mL}$	11.7 (1.3)	16.6 (1.5)	-3.9	< .001
Serum IGF-1, ng/mL	5.0 (3.9)	13.1 (3.6)	-2.7	.007
Human milk IGF-1, ng/mL	7.3 (4.7)	20.2 (5.1)	-2.4	.001
Plasma obestatin, pg/mL	273.9 (1.1)	222.7 (1.1)	7.0	< .001
Human milk obestatin, pg/mL	559.2 (1.0)	524.8 (1.0)	6.8	< .001

Note. MATBF = participants with adequate total body fat ($\leq 32\%$), METBF = participants with an excess total body fat ($> 32\%$). PP = postpartum; IGF-1 = insulin-like growth factor.

After adjusting for covariates, the ANOVA results showed that the MD of insulin in HM did not significantly change (adjusted $p > .05$) over time postpartum within the MATBF or the METBF groups. According to the within-group comparisons, the IGF-1 level in HM in the MATBF group was significantly higher at 14–15 days than at 30 days postpartum (MD = 4.40 ng/mL, adjusted $p = .036$, 95% CI [0.24, 8.56]); in contrast, the IGF-1 level in HM in the METBF group did not significantly change over time. Obestatin levels in HM in the MATBF group decreased linearly from 3–7 days to 14–15 days and 30 days postpartum, and from 3–7 days to 30 days postpartum (MD = 6.4, adjusted $p = .011$, 95% CI [1.3, 11.5]; MD = 11.5, adjusted $p = .003$, 95% CI [3.5, 19.5], respectively), whereas those in the METBF group decreased from 3–7 days to 30 days postpartum (MD = 20.8, adjusted $p < .001$, 95% CI [12.1, 29.5]) and from 14–15 days to 30 days postpartum (MD = 25.4, adjusted $p < .001$, 95% CI [14.3, 36.5], respectively); however, obestatin levels in HM in the METBF group were comparable between 3–7 and 14–15 days postpartum. During follow-ups, no between-group interactions were found for insulin ($p = .466$) or IGF-1 ($p = .364$), except for obestatin between groups and lactation times ($F = 4.32$, $p = .049$; Figure 3).

Insulin, IGF-1, and Obestatin Levels in Human Milk and Serum/Plasma and Their Changes Postpartum

At 3–7 days and 30 days postpartum, the insulin levels were significantly higher in HM than in serum in both the MATBF ($p = .010$) and METBF ($p < 0.001$) groups (Table 5); however, at 14–15 days postpartum, this finding was only observed in HM in the MATBF group ($p = .002$). Regarding IGF-1 levels, at 3–7 days postpartum, there was no significant difference between the serum and HM IGF-1 levels in both groups ($p > .05$). At 14–15 days ($p = .006$ for MATBF and $p < .001$ for METBF) and 30 days ($p = .002$ for MATBF and $p < .001$ for METBF) postpartum, the IGF-1 level was significantly higher in HM than in serum ($p < .05$) in both groups. Regarding obestatin, at 3–7, 14–15, and 30 days postpartum, its levels were significantly higher by two-fold in HM than in plasma in both groups ($p < .001$).

In the MATBF group, the serum insulin level decreased at 30 days postpartum compared with 3–7 and 14–15 days postpartum, albeit without significance for the last. Meanwhile, in the METBF group, the serum insulin level significantly increased from 3–7 days to 14–15 days ($p < .005$) but

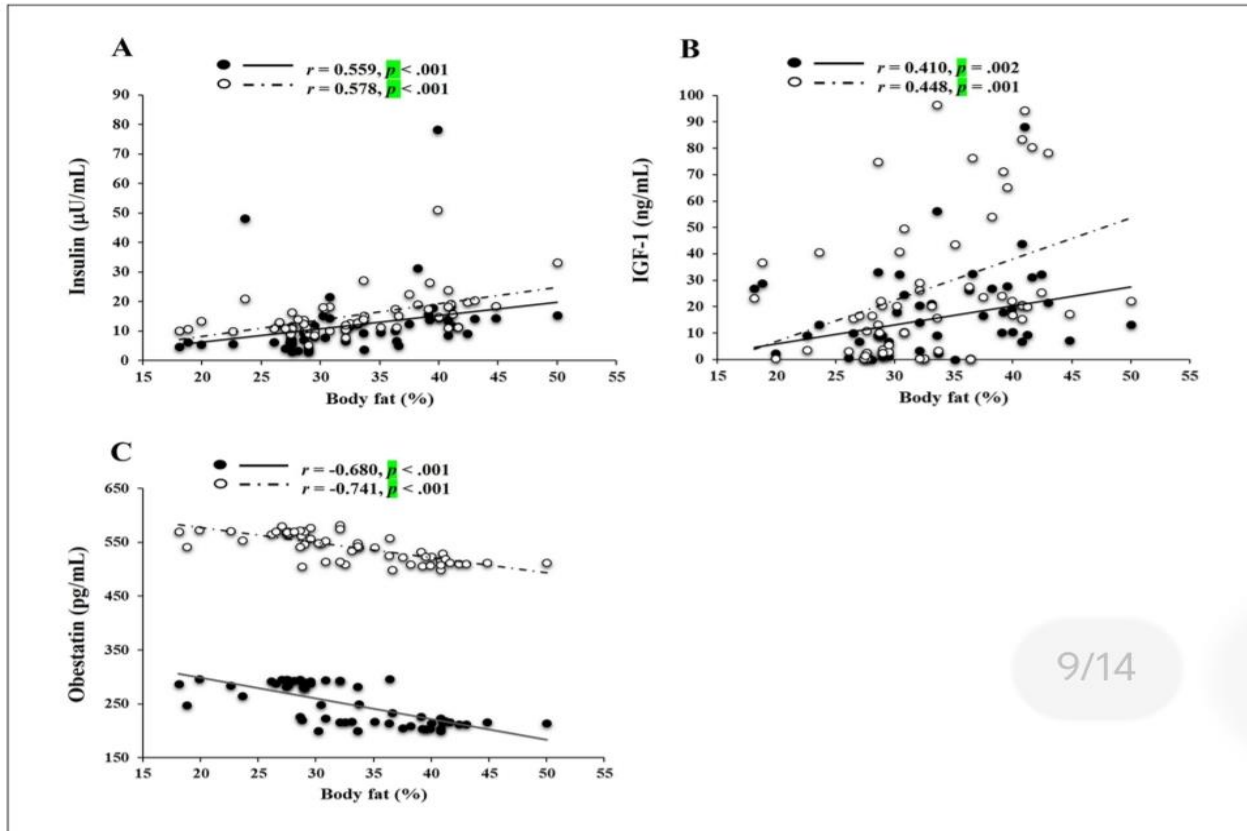


Figure 2. Correlation Between the Levels of Hormones in Participants' Serum or Plasma and Human Milk Samples, and Body Fat Percentage at Month 1 Postpartum ($n = 58$).

Note. Panel A: Correlation between Insulin (serum) levels and body fat. Panel B: Correlation between IGF-1 (serum) levels and body fat. Panel C: Correlation between obestatin (plasma) level and body fat. IGF-1 = insulin-like growth factor-1. Pearson correlations were applied.

decreased at 30 days postpartum ($p < .05$; Figure 4A). In both groups, the HM insulin level remained unchanged at 3–7, 14–15, and 30 days postpartum (Figure 4B). In the MATBF group, the level of serum IGF-1 was significantly higher at 14–15 days than at 30 days postpartum ($p < .05$; Figure 4C), whereas that in the METBF group was significantly higher at 3–7 and 14–15 days than at 30 days postpartum ($p < .05$). In the MATBF group, the IGF-1 level in HM at 14–15 days postpartum increased significantly ($p < .05$) compared with that at 3–7 days postpartum; however, at 30 days postpartum, the IGF-1 levels in HM decreased significantly in both groups ($p < .05$; Figure 4D). The obestatin levels in plasma (Figure 4E) and HM (Figure 4F) decreased significantly ($p < .005$) over time during the first 30 days postpartum in both the MATBF and METBF groups.

Changes in IGF-1 mRNA Expression Postpartum

We analyzed the mRNA expression of IGF-1 in HM over time in a subsample of 15 participants selected at random. The transcript levels of IGF-1, casein, and α -lactalbumin are shown in Figure S1. Although we detected IGF-1 mRNA in HM fat, its expression remained unchanged at all three time points.

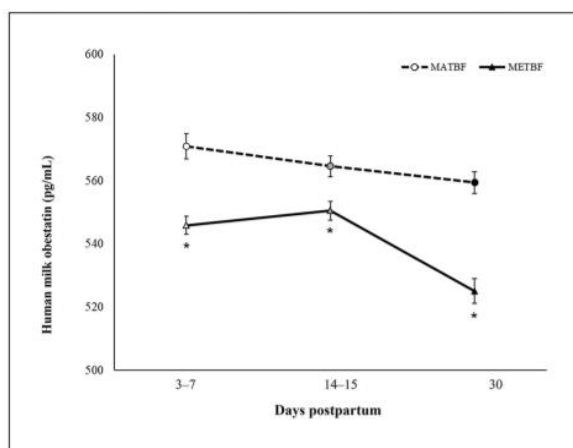
Discussion

The results of our study supported previous findings that insulin levels in HM and serum of participants were directly related to body fat mass (Schneider-Worthington et al., 2020). Also, we observed a decrease in serum insulin levels at 14–15 and 30 days postpartum, which we attribute to improved insulin

Table 4. Associations Between Adiposity With Insulin, IGF-I and, Obestatin in Human Milk Grouped by Percentage of Body Fat (N = 58).

Models	Mean difference METBF – MATBF	95% CI	p
Insulin, $\mu\text{U}/\text{mL}$			
Model 1	6.3	3.2, 9.4	< .001
HM at 3-7 d PP	7.4	2.3, 12.5	.007
HM at 14-15 d PP	5.5	2.5, 8.4	.001
HM at 30 d PP	6.1	2.3, 9.9	.003
IGF-1, ng/mL			
Model 2	21.7	11.0, 32.4	< .001
HM at 3-7 d PP	22.9	10.9, 35.0	.001
HM at 14-15 d PP	22.3	10.0, 34.5	.001
HM at 30 d PP	19.9	8.5, 31.3	.001
Obestatin, pg/mL			
Model 3	-24.5	-34.0, -15.0	< .001
HM at 3-7 d PP	-25.1	-35.8, -14.3	< .001
HM at 14-15 d PP	-14.1	-23.4, -4.7	.005
HM at 30 d PP	-34.3	-45.2, -23.5	< .001

Note. MATBF = mothers with adequate total body fat ($\leq 32\%$), METBF = mothers with an excess total body fat ($> 32\%$); PP = postpartum; HM = Human milk. Statistical significance $p < .05$ after adjustment for maternal age and its corresponding circulating analyte measured at 5, 15, and 30 days postpartum by repeated-measures ANOVA.

**Figure 3.** Obestatin Levels in Human Milk Samples From Obese (METBF) and Non-Obese (MATBF) Participants at 3–7, 14–15, and 30 days postpartum.

Note. Data are shown as mean (standard error) of obestatin levels in human milk after adjusting for the plasma obestatin levels at certain time points and maternal age. MATBF, mothers with adequate total body fat ($\leq 32\%$); METBF, mothers with excess total body fat ($> 32\%$). Interaction between groups and lactation times, $F = 4.32$, $p = .049$. Difference between groups, $*p \leq .005$.

sensitivity after pregnancy owing to maternal tissues of healthy participants; however, this decrease was not observed in the METBF group. Obese participants had higher serum insulin

Table 5. Comparison of Human Milk and Serum Insulin, IGF-I, and Obestatin Levels (N = 58).

Time Period	Serum M (SD)	Human Milk M (SD)	t	p
Insulin ($\mu\text{U}/\text{Ml}$)				
PP 3-7 Days				
MATBF	9.3 (2.0)	12.6 (1.5)	-2.5	.010
METBF	11.5 (1.6)	18.9 (1.6)	-6.0	< .001
PP 14-15 Days				
MATBF	8.5 (1.8)	12.2 (1.4)	-4.0	.002
METBF	15.1 (1.7)	17.3 (1.4)	-1.7	.304
PP 30 Days				
MATBF	7.4 (1.9)	11.7 (1.3)	-4.5	.001
METBF	12.2 (1.7)	16.6 (1.5)	-3.8	.001
IGF-I (ng/mL)				
PP 3-7 Days				
MATBF	5.9 (5.0)	6.2 (5.9)	-.16	.428
METBF	20.5 (4.8)	25.4 (3.6)	-1.3	.651
PP 14-15 Days				
MATBF	11.5 (2.3)	15.7 (2.1)	-3.4	.006
METBF	23.9 (2.2)	36.2 (2.0)	-4.9	< .001
PP 30 Days				
MATBF	5.4 (3.9)	7.1 (4.8)	-1.9	.002
METBF	13.1 (3.6)	19.7 (5.2)	-3.3	< .001
Obestatin (pg/mL)				
PP 3-7 Days				
MATBF	278.2 (1.1)	570.6 (1.0)	-55.2	< .001
METBF	245.7 (1.1)	544.7 (1.03)	-65.5	< .001
PP 14-15 Days				
MATBF	278.9 (1.1)	524.4 (1.0)	-60.6	< .001
METBF	242.5 (1.1)	547.8 (1.0)	-60.0	< .001
PP 30 Days				
MATBF	273.9 (1.1)	559.2 (1.0)	-44.7	< .001
METBF	222.7 (1.1)	512.9 (1.0)	-51.4	< .001

Note. MATBF = participants with adequate total body fat ($\leq 32\%$), METBF = participants with an excess total body fat ($> 32\%$). PP = postpartum; IGF-1 = insulin-like growth factor. Differences between groups were evaluated by the two-sided hypothesis t-statistic = paired t test.

levels; hence, peripheral insulin resistance that developed during late pregnancy prevented insulin levels immediately returning to within normal range. Thus, hyperinsulinemia may be accentuated in obesity and may have implications for obese mothers (Kampmann et al., 2019).

We also reported that insulin level in HM was consistently higher than that in serum postpartum, which was also reported by Schneider-Worthington et al. (2020). Thus, infants were exposed to high levels of oral insulin at the beginning of lactation. During this period, there is postnatal acquisition of functionally mature pancreatic β -cells that secrete insulin (Henquin & Nenquin, 2018). Insulin not only plays an important role in intestinal maturation, but it may also contribute to improve lactase activity (Indrio et al., 2022); however, whether milk derived from an obese mother could condition the infant's development remains unknown (Young et al., 2017).

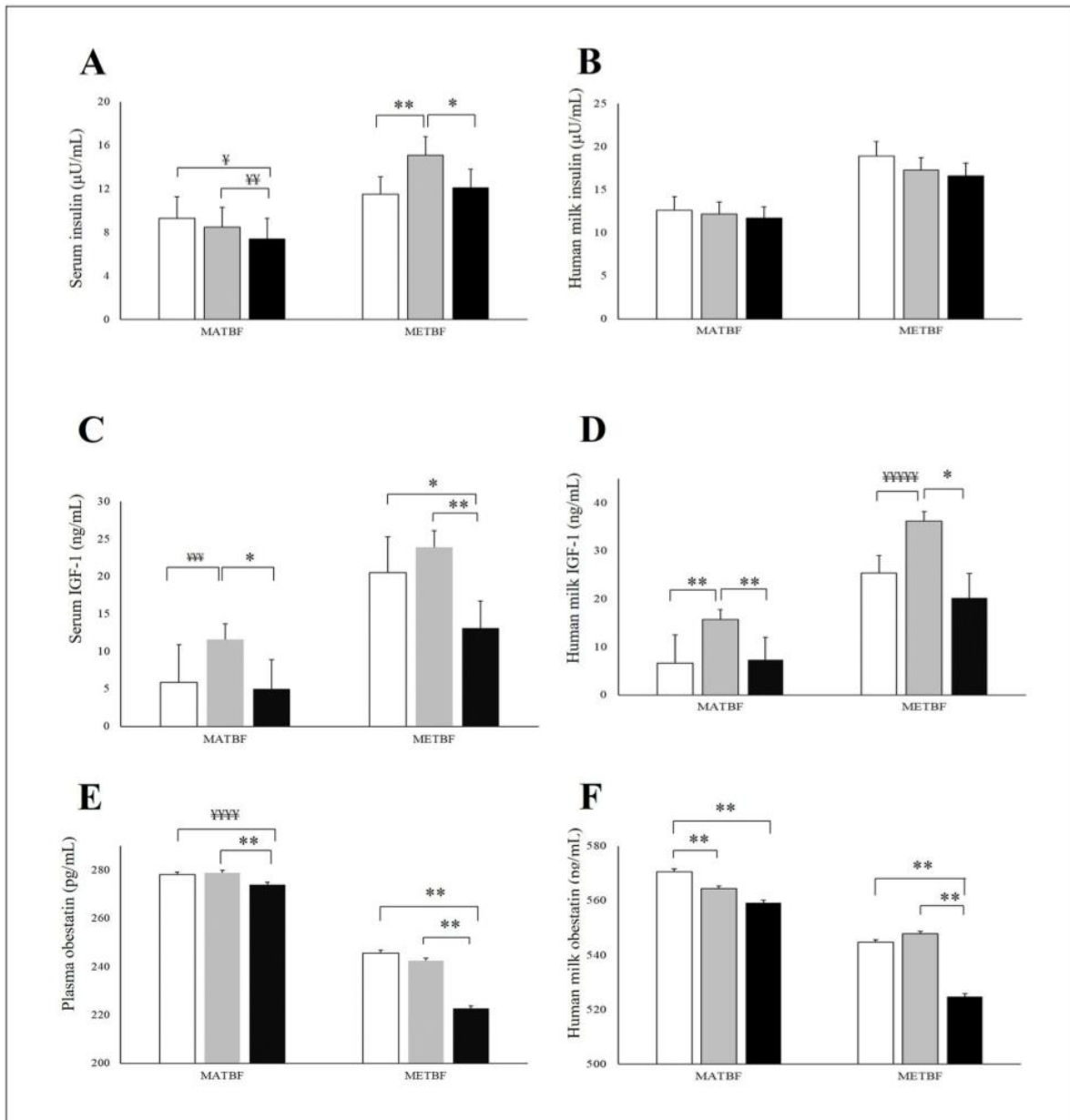


Figure 4. Box Plots of Insulin, IGF-1, and Obestatin Levels in Blood and Human Milk Samples From Obese and Non-Obese Participants at 3–7, 14–15, and 30 Days Postpartum.

Note. Panel A: Distributions of serum insulin levels in the MATBF and METBF groups. Panel B: Distributions of HM insulin levels in the MATBF and METBF groups. Panel C: Distributions of serum IGF-1 levels in the MATBF and METBF groups. Panel D: Distributions of HM IGF-1 levels in the MATBF and METBF groups. Panel E: Distributions of serum obestatin levels in the MATBF and METBF groups. Panel F: Distributions of HM obestatin levels in the MATBF and METBF groups. Differences were evaluated by the two-sided hypothesis paired t test. Data are presented as mean (SD). MATBF, mothers with adequate total body fat ($\leq 32\%$); METBF, mothers with excess total body fat ($> 32\%$); IGF-1, insulin-like growth factor-1.

* $p < .05$, ** $p < .005$, * $p = .066$, ** $p = .071$, *** $p = .067$, **** $p = .080$, ***** $p = .050$.
 □ at 3–7 days postpartum, at 14–15 days postpartum, ■ at 30 days postpartum.

We hypothesized that high levels of insulin in HM in the METBF group may be clinically significant. Chan et al. (2018) reported that high insulin levels of up to 20.3 $\mu\text{U/ml}$ in HM negatively influences infant growth and body composition during the 1st year of life. In addition, insulin levels in HM are positively associated with the fat mass index during the first 9 months of life (Sims et al., 2020). Although the role of HM insulin in infant development has not yet been completely elucidated, it is generally accepted that it participates in nutritional programming. Dearden et al. (2021) summarized the current knowledge of the role of insulin in prenatal development and highlighted that maternal hyperinsulinemia may lead to developmental alterations in vital organ systems, for example, the cardiovascular and central nervous systems, that may result in long-term implications in organ function. These changes are related to an improved susceptibility to cardiometabolic diseases in the offspring of obese mothers. However, more studies are required to further understand the relationship between insulin and infant development.

The association of the IGF-1 level in the serum of participants with high body fat mass is an expected finding because adipose is the primary tissue that secretes IGF-1 (Michalczyk et al., 2021). In adults, serum IGF-1 is not only directly correlated with the BMI (Lewitt et al., 2014) but is also transferred to the mammary glands (Ha et al., 2016). We found that the level of IGF-1 in HM was consistently higher than that in serum postpartum. This can be explained by the fact that IGF-1 uptake by the mammary gland is favored (Ha et al., 2016) despite the ability of mammary tissues to synthesize IGF-1, which suggested the presence of IGF-1 mRNA in HM. However, mRNA expression is not always a favorable indicator of protein expression (Yan et al., 2018); thus, the protein levels in mammary epithelial cells should be investigated. Our findings contribute new information about the origin of IGF-1 in HM.

The role of HM IGF-1 in infant development remains unknown, and it is unclear whether elevated HM IGF-1 levels negatively affect infant health. In recent studies, Galante et al. (2020) reported that HM IGF-1 levels are positively associated with a higher weight z score at 13 months after birth and a lower weight z score at 3 and 5 years of age. Nonetheless, whether increased HM IGF-1 levels could promote obesity requires further investigation.

In addition, we observed higher HM IGF-1 levels at 14–15 days postpartum. Researchers have consistently reported higher IGF-1 levels in HM in the first 2 weeks postpartum than in 9 months postpartum (Milson et al., 2008); however, the authors did not expound on the influence of HM IGF-1 on maternal obesity.

Obestatin levels in both HM and plasma were lower in participants with excess adipose tissue than those with adequate adipose tissue; thus, adiposity negatively correlated with obestatin levels. Our findings are consistent with the

previous research reported by Figen et al. (2020), which showed that low circulating obestatin levels were associated with obesity in non-lactating participants. Therefore, to our knowledge, this is the first study that showed that obestatin levels in HM was affected by maternal adiposity. In the MATBF group, obestatin levels gradually decreased from 3–7 days to 30 days postpartum; in contrast, in the METBF group, this decrease was not linear. This difference may be attributed to the interaction between obestatin and fat during the 1st month of lactation, that is, obestatin levels in HM are influenced by adiposity.

Additionally, we found that at all time points, obestatin levels in HM were approximately twice as high as those in the serum in both groups. Aydin et al. (2008) reported similar results, although they did not differentiate between obese and non-obese mothers. Additionally, obestatin levels in HM decreased gradually up to 30 days postpartum, which may be related to its function in controlling appetite (Gila-Diaz et al., 2019). The appetite of newborns should be regulated because overeating may negatively affect infant metabolism (Watchmaker et al., 2020). However, to the best of our knowledge, the relationship between obestatin levels in HM and nutritional programming in infants has not yet been investigated; thus, further studies are required.

Limitations

First, follow-up data on infant growth and body composition were not collected, and the levels of insulin, IGF-1 and obestatin in infant serum/plasma were not analyzed. Second, our sample size was small, and we did not adjust for other covariates, including total volume of milk collected from the participants. Third, the generalizability of our findings is limited owing to the participant population living in only one geographic area. Lastly, we used single-frequency bioelectric impedance analysis (SF-BIA) to estimate the total body fat. As the SF-BIA current only passes through extracellular water and not through intracellular water, it underestimates fat mass in obese subjects. Also, the SF-BIA results may not be an accurate representation of body fat in abdominally obese individuals.

Conclusions

Maternal adiposity may increase levels of insulin and IGF-1 and decrease obestatin levels in HM up to 30 days postpartum, and the levels of these hormones are higher in HM than in serum/plasma, regardless of total body fat. Additionally, insulin levels in HM were unchanged, whereas those of obestatin gradually decreased over time in both obese and non-obese mothers. More research is required to investigate the long-term changes in the levels of these hormones and their possible effects on infant metabolism and development.

Acknowledgments

We would like to thank all the mothers who participated in this study. Also, we thank the medical staff of the Family Medicine Services 4, 10, and 26 of the Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, Mexico.

Author Contribution(s)

Pilar A. Badillo-Suárez: Data curation; Methodology; Validation; Visualization; Writing – original draft.

Maricela Rodríguez-Cruz: Conceptualization; Funding acquisition; Investigation; Project administration; Resources; Writing – review & editing.

Mariela Bernabe-García: Data curation; Formal analysis; Software; Writing – review & editing.

Judith Villa-Morales: Investigation; Methodology; Supervision; Writing – review & editing.

Ricardo Iglesias-Rodríguez: Data curation; Methodology; Validation; Writing – review & editing.

Samuel Canizales-Quinteros: Investigation; Resources; Writing – review & editing.

Fairt V. Carmona-Sierra: Investigation; Methodology; Writing – review & editing.


Disclosures and Conflicts of Interest

The authors declared the following potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article: At the time this research was conducted, Pilar A. Badillo-Suárez was a PhD student in the Unidad de Investigación Médica en Nutrición at Instituto Mexicano del Seguro Social. Maricela Rodríguez-Cruz and Samuel Canizales-Quinteros were the advisors. The authors declare no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.


Funding

The authors disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article: This research was supported by the Coordinación de Investigación Médica en Salud, Instituto Mexicano del Seguro Social, México (Grant #FIS/IMSS/PROT/PRI0/15/045), and by the Instituto de Nutrición y Salud Kellogg (FIS/IMSS/PROT/1523).

ORCID iDs

Pilar A. Badillo-Suárez  <https://orcid.org/0000-0002-3933-4476>

Maricela Rodríguez-Cruz  <https://orcid.org/0000-0001-8496-4023>

Mariela Bernabe-García  <https://orcid.org/0000-0001-9970-2077>

Supplemental Material

Supplementary Material may be found in the "Supplemental material" tab in the online version of this article.

References

Ahuja, S., Boylan, M., Hart, S., Roman-Shriver, C., Spallholz, J. E., Pence, B. C., & Sawyer, B. G. (2011). Glucose and insulin levels are increased in obese and overweight mothers' breast-milk. *Journal of Food Science*, 2(3), 201–206. <https://doi.org/10.4236/jns.2011.23027>

Aly, G. S., Hassan, N. E., Anwar, G. M., Ahmed, H. H., El-Masry, S. A., El-Banna, R. A., Ahmed, N. H., Kamal, A. N., & Tarkan, R. S. (2020). Ghrelin, obestatin and the ghrelin/obestatin ratio as potential mediators for food intake among obese children: A case control study. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 33(2), 199–204. <https://doi.org/10.1515/jpem-2019-0286>

AsghariHanjani, N., & Vafa, M. (2019). The role of IGF-1 in obesity, cardiovascular disease, and cancer. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 33, 56–59. <https://doi.org/10.34171/mjiri.33.56>

Aydin, S., Ozkan, Y., Erman, F., Gurates, B., Kilic, N., Colak, R., Gundogan, T., Catak, Z., Bozkurt, M., Akin, O., Sen, Y., & Sahn, I. (2008). Presence of obestatin in breast milk: relationship among obestatin, ghrelin, and leptin in lactating women. *Nutrition*, 24(7–8), 689–693. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.03.020>

Chan, D., Goruk, S., Becker, A. B., Subbarao, P., Mandhane, P. J., Turvey, S. E., & Azad, M. B. (2018). Adiponectin, leptin and insulin in breast milk: Associations with maternal characteristics and infant body composition in the first year of life. *International Journal of Obesity*, 42(1), 36–43. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.189>

Cheema, A. S., Stinson, L. F., Rea, A., Lai, C. T., Payne, M. S., Murray, K., Geddes, D. T., & Gridneva, Z. (2021). Human milk lactose, insulin, and glucose relative to infant body composition during exclusive breastfeeding. *Nutrients*, 13(11), 3724. <https://doi.org/10.3390/nu13113724>

Corps, A., Brown, K., Rees, L., Carr, J., & Prosser, C. (1988). The insulin-like Growth Factor I content in human milk increases between early and full lactation. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 67(1), 25–29. <https://doi.org/10.1210/jcem-67-1-25>

Dearden, L., Bouret, S. G., & Ozanne, S. E. (2021). Nutritional and development programming effects of insulin. *Journal of Neuroendocrinology*, 33(4), e12933. <https://doi.org/10.1111/jne.12933>

Di Zazzo, E., Polito, R., Bartollino, S., Nigro, E., Porcile, C., Bianco, A., Daniele, A., & Moncharmont, B. (2019). Adiponectin as link factor between adipose tissue and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 839. <https://doi.org/10.3390/ijms20040839>

Ellsworth, L., Perng, W., Harman, E., Das, A., Pennathur, S., & Gregg, B. (2020). Impact of maternal overweight and obesity on milk composition and infant growth. *Maternal & Child Nutrition*, 16(3), e12979. <https://doi.org/10.1111/mcn.12979>

Eriksen, K. G., Christensen, S. H., Lind, M. V., & Michaelsen, K. F. (2018). Human milk composition and infant growth. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 21(3), 200–206. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000466>

Figen, C. C., Noyan, T., & Özdemir, O. (2020). The investigation effect of weight loss on serum vaspin, apelin-13, and obestatin levels in obese individual. *Turkish Journal of Biochemistry*, 45(6), 725–735. <https://doi.org/10.1515/tjb-2019-0143>

Galante, L., Pundir, S., Lagström, H., Rautava, S., Reynolds, C. M., Milan, A. M., Cameron-Smith, D., & Vickers, M. H. (2020). Growth factor concentrations in human milk are associated with infant weight and BMI from birth to 5 years. *Frontiers in Nutrition*, 7, 110. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00110>

- Garcia, D., Brazal, S., Rodriguez, A., Prat, A., & Vassena, R. (2018). Knowledge of age-related fertility decline in women: A systematic review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 230, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.09.030>
- Garrison, C. B., Zhang, Y., Navarro, S. L., Randolph, T. W., Hullar, M. A., Kratz, M., Neuhaus, M. L., Raftery, D., Lampe, P. D., & Lampe, J. W. (2019). Proteomic analysis of plasma reveals fat mass influences cancer-related pathways in healthy humans fed controlled diets differing in glycemic load. *Cancer Prevention Research*, 12(9), 567–578. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-19-0175>
- Gila-Diaz, A., Arribas, S. M., Algara, A., Martín-Cabrejas, M. A., López de Pablo, A. L., Sáenz de Pipaón, M., & Ramiro-Cortijo, D. (2019). A review of bioactive factors in human breast-milk: A focus on prematurity. *Nutrients*, 11, 1307. <https://doi.org/10.3390/nu11061307>
- Ha, W. T., Jeong, H. Y., Lee, S. Y., & Song, H. (2016). Effects of the insulin-like growth factor pathway on the regulation of mammary gland development. *Development & Reproduction*, 20(3), 179–185. <https://doi.org/10.12717/DR.2016.20.3.179>
- Henquin, J.-C., & Nenquin, M. (2018). Immaturity of insulin secretion by pancreatic islets isolated from one human neonate. *Journal of Diabetes Investigation*, 9(2), 270–273. <https://doi.org/10.1111/jdi.12701>
- Indrio, F., Neu, J., Pettoello-Mantovani, M., Marchese, F., Martini, S., Salatto, A., & Aceti, A. (2022). Development of the gastrointestinal tract in newborns as a challenge for an appropriate nutrition: A narrative review. *Nutrients*, 14(7), 1405. <https://doi.org/10.3390/nu14071405>
- Janssen, J. A. (2021). Hyperinsulinemia and its pivotal role in aging, obesity, Type 2 diabetes, cardiovascular disease and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 7797. <https://doi.org/10.3390/ijms22157797>
- Kampmann, U., Knorr, S., Fuglsang, J., & Ovesen, P. (2019). Determinants of maternal insulin resistance during pregnancy: An updated overview. *Journal of Diabetes Research*, 2019, Article 5320156. 9 pages. <https://doi.org/10.1155/2019/5320156>
- Kemp, E., Vogel, M., Vogel, T., Kratzsch, J., Landgraf, K., Kühnapfel, A., Gausche, R., Grafe, D., Sergeyev, E., Pfaffle, R., Kies, W., Stanik, J., & Körner, A. (2021). Dynamic alterations in linear growth and endocrine parameters in children with obesity and height reference values. *EClinical Medicine*, 37, Article 100977. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100977>
- Kratzsch, J., Bae, Y. J., & Kiess, W. (2018). Adipokines in human breast milk. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 32(1), 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.02001>
- Lewitt, M., Dent, M., & Hall, K. (2014). The insulin like growth factor system in obesity, insulin resistance and Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Medicine*, 3(4), 1561–1574. <https://doi.org/10.3390/jcm304156>
- Michalczyk, K., Niklas, N., Rychlicka, M., & Cymbaluk-Płoska, A. (2021). The influence of biologically active substances secreted by the adipose tissue on endometrial cancer. *Diagnostics*, 11(3), 494. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11030494>
- Milsom, S. R., Blum, W. F., & Gunn, A. J. (2008). Temporal changes in insulin-like growth factors I and II and in insulin-like growth factor binding proteins 1, 2, and 3 in human milk. *Hormone Research in Paediatrics*, 69(5), 307–311. <https://doi.org/10.1159/000114863>
- Obuchowska, A., Standyło, A., Kimber-Trojnar, Ż., & Leszczyńska-Gorzela, B. (2021). The possibility of using bioelectrical impedance analysis in pregnant and postpartum women. *Diagnostics*, 11(8), 1370. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081370>
- Patel, N., Hellmuth, C., Uhl, O., Godfrey, K., Briley, A., Welsh, P., Pasupathy, D., Seed, P. T., Koletzko, B., & Poston, L., & UPBEAT Consortium. (2018). Cord metabolic profiles in obese pregnant women: Insights into offspring growth and body composition. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 103(1), 346–355. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00876>
- Schneider-Worthington, C. R., Bahorski, J. S., Fields, D. A., Gower, B. A., Fernández, J. R., & Chandler-Laney, P. C. (2020). Associations among maternal adiposity, insulin, and adipokines in circulation and human milk. *Journal of Human Lactation*, 37(4), 714–722. <https://doi.org/10.1177/89033442096711>
- Sims, C. R., Lipsmeyer, M. E., Turner, D. E., & Andres, A. (2020). Human milk composition differs by maternal BMI in the first 9 months postpartum. *American Journal of Clinical Nutrition*, 112(3), 548–557. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa098>
- Watchmaker, B., Boyd, B., & Dugas, L. R. (2020). Newborn feeding recommendations and practices increase the risk of development of overweight and obesity. *BMC Pediatrics*, 20(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12887-020-1982-9>
- Yan, J., Lei, J., Chen, L., Deng, H., Dong, D., Jin, T., Liu, X., Yuan, R., Qiu, Y., Ge, J., Peng, X., & Shao, J. (2018). Human leukocyte antigen F locus adjacent transcript 10 overexpression disturbs WISP1 protein and mRNA expression to promote hepatocellular carcinoma progression. *Hepatology*, 68(6), 2268–2284. <https://doi.org/10.1002/hep.30105>
- Young, B. E., Patinkin, Z., Palmer, C., de La Houssaye, B., Barbour, L. A., Hernández, T., Friedman, J. E., & Krebs, N. F. (2017). Human milk insulin is related to maternal plasma insulin and BMI—But other components of human milk do not differ by cohort characteristics. *European Journal of Clinical Nutrition*, 71(9), 1094–1100. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2017.75>

ANEXO 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

México, D. F. a _____ de _____ del 201__

Nombre del estudio: **Composición de la leche durante la lactancia de mujeres con sobrepeso u obesidad: macronutrientes y hormonas reguladoras de la ingesta alimenticia.**

Número de registro ante la Comisión Nacional de Investigación Científica del Instituto Mexicano del Seguro Social con número _____

Justificación y Objetivo del estudio:

La estamos invitando a participar en un estudio de investigación que se llevará cabo en la Unidad de Investigación Médica en Nutrición, porque usted está embarazada y tiene planeado alimentar a su hijo con leche materna exclusivamente al menos durante los 3 primeros meses. Es importante que usted sepa que de acuerdo a organizaciones Internacionales la leche materna es el mejor alimento para su hijo durante su primer año de vida; ya que le proporciona al recién nacido todos los nutrientes para que su hijo se desarrolle bien durante al menos los primeros seis meses de vida, además de que se ha descrito una menor posibilidad de que estos niños tengan sobrepeso y obesidad en un futuro.

El propósito de esta investigación es evaluar la calidad de la leche en cuanto al contenido de varios nutrientes y de algunas moléculas que regulan la ingesta de alimentos, de mujeres con diferente estado nutricional (normo-peso, sobrepeso u obesidad). Esta información será la base para proponer estrategias con la finalidad de mejorar la calidad de la leche en estas mujeres, tales estrategias podrían ser la suplementación de algún nutriente específico que mejore el estado nutricional de la madre.

La participación en este estudio es voluntaria por lo que le pedimos lea cuidadosamente la información que le proporcionamos y haga las preguntas que desee con la finalidad de aclarar todas sus dudas antes de aceptar participar.

Procedimientos:

Si usted acepta participar en el estudio, se le solicitará que nos proporcione sus datos para agendar cinco citas después del parto en su domicilio, para obtener información de usted y de su hijo, así como una muestra de leche y una de sangre en las tres primeras visitas, tal y como se explica a continuación. En la primera cita se le pedirá que responda un cuestionario (para lo cual ocupará un máximo de 10min) sobre sus datos generales como su edad, talla, peso antes del embarazo y si tiene algún padecimiento. También le solicitamos su autorización para consultar su expediente clínico y tomar las distintas mediciones de peso y talla que se le realizaron durante sus consultas prenatales. En caso de que usted lo prefiera, usted podrá asistir a su UMF para la toma de muestra.

Se registrarán valores de peso y talla durante toda la gestación, para llevar un control de su estado nutricional. Después del parto se volverán a tomar estas medidas en las mismas fechas en que se colecten las muestras de leche para conocer su estado de nutrición, es decir si su peso es normal, tiene sobrepeso o es obesa. Así mismo se registrarán los valores de peso y talla de su hijo durante los tres primeros meses después del parto.

Obtención de muestras de leche. La leche se colectará en recipientes libres de gérmenes vaciando simultáneamente ambos pechos utilizando una bomba eléctrica grado hospitalario. Para las mediciones se tomará una cucharada (equivalente a 5 mililitros) de leche de cada pecho, se mezclarán y se transferirán a un tubo estéril. La primera muestra

se tomará entre el día 5-7 después del parto, la segunda muestra se tomará entre los días 8-14 después del parto y la tercera muestra se tomará entre los días 15-30 después del parto. Le aseguramos que la cantidad que tomaremos es muy pequeña, por lo que no debe preocuparse de que su hijo se quede sin el alimento suficiente, para satisfacer sus necesidades.

Obtención de Sangre periférica. Los mismos días que se colecten las muestras de leche, también se le tomara una muestra de sangre periférica por venipuntura equivalente a 1 cucharada o 5 mL (en ayuno de 12h).

Posibles riesgos y molestias:

La evaluación clínica (medición de peso y talla) no es invasiva y por lo tanto no ocasionan dolor, incomodidad o riesgo alguno. La obtención de la muestra de leche no le causará ningún dolor, pero quizá le incomode un poco usar una bomba eléctrica especial para extraer leche. Las molestias durante la toma de sangre son mínimas, en algunas ocasiones el procedimiento puede causarle un poco de dolor en el momento de la punción y es posible que se le pueda formar un hematoma (moretón), pero le aseguramos que la persona que tome la muestra es experta en este procedimiento, por lo cual disminuyen estos riesgos.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:

Los resultados de las pruebas de laboratorio y clínicas que le realizaremos le proporcionarán información sobre su estado de salud: como la cantidad de insulina presente en la sangre para prevenir que en etapas posteriores usted desarrolle alguna otra patología como diabetes. Por otra parte, se les dará a conocer el contenido nutricional y la calidad de su leche, siendo esto un beneficio importante para embarazos posteriores; ya que en caso de observar algún incremento o deficiencia en cuanto a los macronutrientes, se le dará orientación nutricional con la finalidad de mejorar su nutrición.

Otro posible beneficio es que su participación ayude a identificar las diferencias en cuanto al contenido nutricional de la leche materna en mujeres con diferente estado nutricional. Finalmente, en caso de que usted desee asesoría nutricional, ésta se le proporcionará cuando deje de lactar y se le invitará a que asista a la UIMN para recibir dicha asesoría.

Información sobre resultados:

Durante el curso de este estudio, le informaremos de cualquier hallazgo (bueno o malo) que sea importante para la decisión de que continúe participando en este estudio.

Participación o retiro:

La participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS con los procedimientos establecidos de esta Institución. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento sin que esto modifique los beneficios que tiene en la institución que atiende su salud y la de su familia.

Privacidad y confidencialidad:

La información proporcionada que pudiera ser utilizada para identificarla (nombre, teléfono y dirección,) sus respuestas a los cuestionarios y los resultados de la investigación serán manejados de manera confidencial y privada. Sólo proporcionaremos su información si fuera necesario para proteger sus derechos o su bienestar, o si lo requiere la ley. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados, le aseguramos que no se dará información que pudiera revelar su identidad. Para lograr esto, todos los resultados que se obtengan se manejarán con un número para mantener el anonimato y usaremos ese número en lugar de su nombre en las hojas que contengan la información de todos los pacientes.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a: Investigadora Responsable: Dra. Maricela Rodríguez Cruz de 8:00 a 16:00 hrs de lunes a viernes, al teléfono 56276900 en la extensión 22483. Laboratorio de Nutrición Molecular. Unidad de Investigación Médica en Nutrición. 4to. Piso, Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social. Correo electrónico: maricela.rodriguez.cruz@gmail.com.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia

Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comité.eticainv@imss.gob.mx

Declaración de consentimiento informado:

Declaro que se me ha informado amplia y claramente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, arriba mencionados. Además, he leído o alguien me ha leído este documento que representa mi consentimiento para que yo participe en este estudio. Durante la explicación he realizado todas las preguntas y las respuestas de quien me ha explicado me han aclarado todas las dudas que tengo hasta el momento. Finalmente declaro que al firmar este documento estoy de acuerdo en autorizar mi participación en esta investigación.

Estoy de acuerdo en participar en el estudio: _____Si _____No.

Nombre y firma de la participante

Nombre, dirección, parentesco y firma del testigo 1

Nombre, dirección, parentesco y firma del testigo 2

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

ANEXO 3. CUESTIONARIO DATOS GENERALES

Proyecto: Composición de la leche durante la lactancia de mujeres con sobrepeso u obesidad: macronutrientes y hormonas reguladoras de la ingesta alimenticia.

Responsable: Dra. Maricela Rodríguez Cruz

Colaborador: M. en C. Amellali Badillo Suárez

Datos generales

Nombre: _____

Fecha de nacimiento (Día/Mes/Año): _____

Edad (años): _____

Dirección: _____

Teléfono/ celular: _____

No. Afiliación: _____

Fecha de próxima cita en su UMF No.: _____

II. Datos clínicos

Edad de inicio de menarca: _____

Semanas de gestación: _____

Fecha y hora de parto: _____ Talla _____ Peso _____

Tipo de parto: _____

¿Abortos Si _____ No _____ Cuantos? _____

Talla: _____

Peso actual: _____ Peso previo al embarazo: _____

¿Toma medicamentos? Si _____ No _____ Especificar cuáles, así como la cantidad y la frecuencia _____

¿Toma suplementos alimenticios? Si _____ No _____ Especificar cuáles, así como la cantidad, frecuencia y marca _____

¿Consume alcohol? Si _____ No _____

Frecuencia _____

¿Consume tabaco? Si _____ No _____

Frecuencia _____

Antecedentes familiares de alergias, anemia, asma, artritis, cáncer, cardiopatías, diabetes, arteriosclerosis, hemofilia, hipertensión arterial, trastornos ginecológicos, enfermedades venéreas, SIDA, enfermedades mentales, reumatismo, tuberculosis:

III. Ablactación:

¿Le está proporcionando algún tipo de alimento sólido o líquido a su bebé? Si _____ No _____

Especificar cuál, frecuencia (día/semana/mes), cantidad y cuando inicio _____

Observaciones _____

IV. Toma de muestra

Día de toma de muestra	Fecha	Hora de extracción de sangre	Volumen extraído	Hora de inicio de la extracción de leche	Hora de finalización de la extracción de leche	Volumen extraído
Día 5-7						
Día 14						
Día 30						

Observaciones día 5-7: _____

Observaciones día 14: _____

Observaciones día 30: _____

Día posparto	Fecha	Última hr que lacto	Talla madre Cm	Peso madre Kg	Peso Hijo Kg	Talla hijo Cm	Perímetro cefálico hijo Cm
			Madre		Hijo (a)		
Día 5-7 ____							
Medición 1							
Medición 2							
Día 14 ____							
Medición 1							
Medición 2							
Día 30 ____							
Medición 1							
Medición 2							

ANEXO 4. VALORACIÓN NUTRICIA (RECORDATORIO DE ALIMENTOS DE 24 HR)

Fecha _____ Nombre del paciente _____

Edad _____

¿Ha ganado o perdido peso en los últimos 6 meses? _____ ¿Cuánto? _____

Antecedentes:

¿Sigue alguna dieta especial? _____ ¿Qué tipo de dieta? _____

¿Ha utilizado dietas para bajar de peso anteriormente? _____ ¿De cuantas calorías? _____

¿Tiene dificultades para deglutir o masticar? _____

¿Recientemente ha tenido náuseas, vómito, cambios en el apetito, diarrea o estreñimiento?

¿A qué alimentos es alérgico? _____

¿Qué alimentos no tolera o le disgustan? _____

¿Toma suplementos alimenticios? _____ ¿Cuáles? _____

¿Toma algún medicamento? _____ ¿Cual? _____

Le gusta ingerir alimentos raros como gis, pintura, etc. _____

Toma habitualmente refrescos y jugos _____ ¿Cuáles? _____

Estilo de vida:

¿Hace ejercicio? _____ ¿Con que frecuencia? _____

Problema actual:

Plan de manejo nutricional:

DIA 1

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA ENTRE SEMANA)

DESAYUNO: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

COLACIÓN: _____ **HORA** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA ENTRE SEMANA)

COMIDA: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDINETES

COLACIÓN: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA ENTRE SEMANA)

CENA: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

DIA 2

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA ENTRE SEMANA)

DESAYUNO: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

COLACIÓN: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA ENTRE SEMANA)

COMIDA: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

COLACIÓN: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

DIA 3

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA DE FIN DE SEMANA)

DESAYUNO: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

COLACIÓN: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA DE FIN DE SEMANA)

COMIDA: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

COLACIÓN: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

MARCA DE INGREDIENTES

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DIA DE FIN DE SEMANA)

CENA: _____ **HORA:** _____

INGREDIENTES: _____ CANTIDAD _____

ANEXO 5. CALCULO DEL ÍNDICE HOMA

Tabla 8. índice de Resistencia a la Insulina HOMA-IR

Período	Saludable n= 28	No Saludable n= 30	Valor de <i>p</i>
5-7 días posparto			
Glucosa (mg/dL)	71.54 (56, 89)	75 (59, 83)	0.965
Insulina sérica (μUI/mL)	8.09 (2.52, 48.94)	10.26 (4.35, 44.97)	0.094
HOMA	1.41 (0.42, 7.46)	1.98 (0.78, 9.22)	0.087
14-15 días posparto			
Glucosa (mg/dL)	74.50 (61, 86)	80 (64, 98)	0.235
Insulina sérica (μUI/mL)	7.68 (2.78, 40.90)	17.01 (3.26, 41.04)	< 0.001
HOMA	1.46 (0.50, 6.57)	3.10 (0.59, 8.92)	< 0.001
30 días posparto			
Glucosa (mg/dL)	81 (65,96)	80 (64, 93)	0.650
Insulina sérica (μUI/mL)	7.25 (2.95, 48.24)	11.96 (3.79, 78.32)	0.001
HOMA	1.41 (0.60, 5.81)	2.39 (0.60, 17.60)	0.002

Los datos están expresados como medias ± desviación estándar y como medianas (mínimo, máximo).

