



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ASOCIACIÓN ENTRE LA INSULINA SECRETADA EN LA
LECHE MATERNA Y LA INSULINA SÉRICA CON LA
MASA GRASA CORPORAL DE MUJERES PRIMIGESTAS
CON DIFERENTE ESTADO NUTRICIO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA EN ALIMENTOS

PRESENTA

MARÍA DEL ROSARIO RUIZ LEÓN

DIRECTORA DE TESIS

M. en C. PILAR AMELLALI BADILLO SUÁREZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD DE MÉXICO

2018



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** OSCAR ARMANDO PÉREZ MÉNDEZ
VOCAL: **Profesora:** TANIA GÓMEZ SIERRA
SECRETARIO: **Profesora:** PILAR AMELLALI BADILLO SUÁREZ
1^{ER} SUPLENTE: **Profesora:** FRANCISCA MORAYNA GUTIERREZ LUNA
2^{DO} SUPLENTE: **Profesora:** ALBERTO ORTEGA VÁZQUEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Nutrición Molecular, Unidad de Investigación Médica en Nutrición (UIMN), Centro Médico Nacional Siglo XXI, Hospital de Pediatría, IMSS.

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. PILAR AMELLALI BADILLO SUÁREZ

SUSTENTANTE:

MARÍA DEL ROSARIO RUIZ LEÓN

AGRADECIMIENTOS

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 IMSS, fue financiado por dicha institución por medio del proyecto “Composición de la leche durante la lactancia de mujeres con sobrepeso u obesidad: Macronutrientes y hormonas que regulan la ingesta de alimentos” (Registro ante la CNIC del IMSS R-2015-785-045) a través del programa de “Apoyo financiero para el desarrollo de protocolos de investigación y desarrollo tecnológico sobre prioritarios de salud (FIS/IMSS/PROT/PRIO/15/045) y por Kellogg’s (Apoyo a Proyectos de Investigación en Nutrición, 2015). Por lo que agradezco el apoyo proporcionado por estas Instituciones.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. MARCO TEÓRICO	11
2.1 <i>Sobrepeso y Obesidad</i>	11
2.2 <i>Situación en México</i>	11
2.3 <i>Parámetros para determinar el estado nutricional</i>	13
2.4 <i>Modificaciones fisiológicas durante el embarazo</i>	14
2.5 <i>Lactancia materna</i>	16
2.5 <i>Tipos de leche materna</i>	19
2.6 <i>Lactancia y Obesidad</i>	21
2.7 <i>Insulina</i>	22
2.8 <i>Síntesis y secreción de la insulina</i>	23
2.9 <i>Vías de señalización</i>	25
3. ANTECEDENTES	27
4. JUSTIFICACIÓN	29
OBJETIVOS PARTICULARES.....	31
6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	32
Diseño de estudio	32
Población de estudio.....	32
Tamaño de la muestra.....	32
Aspectos éticos	33
Variables de estudio.....	33
Variables independientes.....	33
Variables dependientes	33
Criterios	33
Criterios de inclusión	33
Criterios de eliminación.....	34
Grupos de estudio.....	34
Procedimientos.....	34
Registro de las mediciones antropométricas de las madres.....	34
Trabajo de campo.....	35
Trabajo en laboratorio.....	35
Cuantificación de insulina	36

Determinación de la concentración de glucosa (SPIN 120)	36
Análisis estadísticos	37
7. RESULTADOS	38
8. DISCUSIÓN	46
9. CONCLUSIONES	54
10. BIBLIOGRAFÍA	55
11. ANEXOS	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación del estado nutricional de acuerdo al IMC	13
Tabla 2. Puntos de corte para evaluar el porcentaje de grasa corporal.	14
Tabla 3. Composición de la leche materna (UNICEF).	20
Tabla 4. Características demográficas de las participantes.....	38
Tabla 5. Concentración de glucosa, insulina sérica y HOMA de mujeres lactando con diferente estado nutricional	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres 20-49 años.....	12
Figura 2. Modificaciones metabólicas durante la gestación.....	16
Figura 3. Histología de la glándula mamaria	18
Figura 4. Desarrollo de la glándula mamaria.....	19
Figura 5. Estructura química de la insulina humana.....	22
Figura 6. Síntesis de insulina	23
Figura 7. Secreción de la insulina	24
Figura 8. Vía de señalización de la insulina.	26
Figura 9. Correlación entre insulina sérica e insulina secretada en la leche materna.....	41

ABREVIATURAS

ATP: adenosin trifosfato

ADP: adenosin difosfato

AGL: ácidos grasos libres

DAG: diacilglicerol

DMT2: diabetes mellitus tipo 2

EGF: factor de crecimiento epidérmico

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

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

GM: glándula mamaria

HRIA: hormonas que regulan la ingesta alimentaria

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

IRS-1: sustrato del receptor de insulina tipo 1

LM: leche materna

LPL: lipoproteína lipasa

OMS: Organización Mundial de la Salud

PI3K: fosfatidilinositol-3-cinasa

PKC: proteína quinasa C

%MG: porcentaje de masa grasa

RE: retículo endoplásmico

RI: resistencia a la insulina

TAG: triacilglicéridos

Tyr: residuos de tirosina

VLDL: “lipoproteínas de muy baja densidad” por sus siglas en inglés very low-density lipoprotein

RESUMEN

La prevalencia del sobrepeso y la obesidad ha incrementado drásticamente a nivel mundial; específicamente en México las mujeres en edad reproductiva presentan alta prevalencia, por lo que es importante considerar, que las afecciones médicas características de la obesidad pueden agravarse durante la gestación, poniendo en riesgo tanto a la madre, como al producto. Por ejemplo, en las mujeres gestantes con sobrepeso u obesidad los altos niveles de glucosa pueden generar hiperglucemia y afectar la vía de señalización del receptor de insulina provocando una mayor secreción de insulina, la cual permanecería elevada durante la “lactancia”. Por lo que se ha enfatizado que el estado nutricional materno y su alimentación podrían verse reflejados en la composición láctea; ya que se ha descrito que entre los componentes de la leche materna se encuentran algunas **hormonas que regulan la ingesta alimenticia (HRIA)**, que podrían influir en la programación del balance energético, tal es el caso de la **insulina**.

Este estudio estuvo enfocado en presentar evidencia científica de las diferencias en la composición láctea en cuanto al contenido de insulina en los tres tipos de leche de mujeres con sobrepeso u obesidad en comparación a la leche de mujeres normopeso, además, de establecer si existe asociación entre la concentración de insulina sérica y la secretada en leche materna (LM), con el porcentaje de masa grasa (%MG) durante primer mes posparto. Esta información será la base para proponer estrategias con la finalidad de mejorar la composición de la leche de mujeres con estos padecimientos.

En este estudio se incluyeron un total de 58 participantes en etapa de lactancia, a las cuales se les tomó muestra de sangre periférica y muestra de los diferentes tipos de leche durante las visitas y se realizó la cuantificación de insulina. Dentro de las características demográficas se observó que las mujeres con mayor %MG tenían mayor edad y por otro lado se observó que los valores de IMC fueron disminuyendo durante el transcurso de la lactancia en ambos grupos. En cuanto a la concentración de insulina sérica entre los días 5-7 se obtuvo una tendencia ($p= 0.094$), y a partir de los días 14-15 se reporta que es más elevada en las mujeres con % MG no saludable. Considerando los cambios de insulina sérica durante el puerperio se observó que en

las mujeres con %MG no saludable, los niveles reportan mayor variabilidad, registrando diferencias significativas del primer al segundo tiempo ($p= 0.002$) y de la segunda a la tercera visita ($p= 0.001$). Este comportamiento se ve reflejado en el índice HOMA ya que las diferencias se alcanzan entre los días 14-15. Por otra parte, en la concentración de insulina secretada en la leche materna se registraron diferencias significativas entre ambos grupos durante las tres visitas, manteniéndose más elevada en las mujeres con %MG no saludable. Además, la concentración de insulina secretada en la LM es mayor que la insulina sérica independientemente del estado de nutrición. Por otra parte, la insulina de la leche materna proveniente de mujeres con %MG saludable mostró disminución significativa entre el calostro y la leche madura ($p < 0.050$), mientras que en mujeres con % MG no saludable, sólo se registró una tendencia ($p = 0.068$) entre calostro y leche de transición.

Finalmente, al mes posparto se presentó correlación positiva ($r= 0.558$, $p < 0.001$) entre el %MG y la insulina sérica al mes posparto y un valor de ($r= 0.543$ $p < 0.001$) con la insulina secretada en la LM. Por lo que, el %MG materno influye directamente en la concentración de insulina sérica y los tres tipos de la leche materna, sin importar el estado nutricional materno.

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la prevalencia de sobrepeso y de obesidad se ha duplicado en los últimos años, como consecuencia de la alta ingesta de alimentos hiperenergéticos y la disminución del gasto energético (Schwartz, 2006). Estas alteraciones nutricias son consideradas patologías, por sus comorbilidades asociadas y se caracterizan por la acumulación anormal o excesiva de grasa corporal. Uno de los parámetros más utilizados para identificar el estado nutricional de un individuo, es el Índice de Masa Corporal (IMC) y de acuerdo a la OMS, las personas cuyo IMC se encuentra entre (25-29.9 kg/m²) presentan sobrepeso; mientras que de 30 kg/m² en adelante son consideradas obesas (OMS 2018).

Los últimos reportes indican que México es uno de los países mayormente afectados, por estas alteraciones nutricias, posicionándolo en los primeros lugares a nivel mundial. Esta situación se considera, 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, diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Casanueva, *et al.*, 2008; Dávila, *et al.*, 2014). Sin embargo, es importante considerar que de acuerdo con los datos mostrados en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio camino 2016 (ENSANUT MC 2016) el género femenino es el más afectado, ya que el 34.8% de las mujeres entre 20 y 49 años, presentan sobrepeso y el 37.4% obesidad.

Por lo que es imperativo tomar en cuenta, que las afecciones médicas presentes en mujeres con obesidad pueden agravarse durante la gestación, poniendo en riesgo tanto a la madre, como al producto. Ya que, de forma normal, 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 (Soma, *et al.*, 2016). No obstante, en las mujeres embarazadas con sobrepeso u obesidad los niveles de glucosa pueden ser aún mayores incrementando la secreción de insulina, por lo que se altera la vía de señalización de su receptor, lo cual consecuentemente podría ocasionar retraso en el crecimiento intrauterino y diabetes gestacional en la

madre (Butte, *et al.*, 1987; Barbour *et al.*, 2007; Colomiere, *et al.*, 2010; Gaggini, *et al.*, 2017).

Es decir que un estado nutricional alterado podría generar complicaciones graves en las mujeres embarazadas o que se encuentren en etapa de lactancia, poniendo en riesgo su salud y la del neonato, afectando negativamente el metabolismo del lactante, ya que la nutrición temprana es un factor clave para el desarrollo de obesidad en etapas posteriores de la vida (Ley, *et al.*, 2011); por lo tanto, la lactancia podría jugar un papel importante en la programación nutricional.

La OMS define la lactancia materna como el proceso mediante el cual la madre le provee al recién nacido los nutrientes necesarios para su desarrollo y óptimo crecimiento durante los primeros meses de vida. La leche materna es un fluido biológico producido por la glándula mamaria, esta secreción está compuesta por nutrientes y moléculas bioactivas, los cuales se van modificando durante la lactancia obedeciendo mecanismos de regulación neuroendocrina; lo que permite cubrir los requerimientos del lactante (Cacho, *et al.*, 2017). Distinguiéndose así tres tipos de leche: calostro, leche de transición y leche madura. Dentro de los componentes de la leche está la fracción proteica, en donde se encuentra un panel de hormonas cuya función biológica es la regulación de la ingesta alimenticia (HRIA) (Savino, *et al.*, 2009).

Tal es el caso de la insulina la cual podría influir en la programación del balance energético, ya que existe evidencia científica que indica que los recién nacidos de mujeres diabéticas y de mujeres obesas, presentan hiperinsulinemia, e intolerancia a la glucosa. Sin embargo, no hay suficiente evidencia acerca de la leche proveniente de madres obesas (clínicamente sanas), y de si existe variación en la concentración de insulina en los tres tipos de leche (Jovanovic, *et al.*, 1989).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Sobrepeso y Obesidad

El sobrepeso se define como el incremento del peso corporal por encima de un patrón dado, en relación a la talla. Sin embargo, no siempre es consecuencia de la acumulación de grasa, sino también puede ser resultado del incremento de la masa muscular o de la retención de líquidos corporales (Harrison, 2002). Por otra parte, la obesidad es una patología de etiología multifactorial de curso crónico que se caracteriza por la acumulación anormal y excesiva de grasa corporal (OMS), en el cual se involucran aspectos genéticos, ambientales y de estilo de vida, que conducen a un trastorno metabólico (González, *et al.*, 2013).

La prevalencia de sobrepeso y obesidad ha incrementado a nivel mundial durante las últimas décadas, como consecuencia del desequilibrio entre la ingesta energética y el gasto energético; principalmente en países en vías de desarrollo. Estas alteraciones metabólicas son consideradas patologías por sus comorbilidades asociadas, tales como: hipertensión, DMT2, enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico, entre otras (Albuquerque, *et al.*, 2015; Dávila, 2015). De acuerdo a la OMS en el 2016 más de 1900 millones de adultos de 18 años en adelante presentaban sobrepeso de los cuales más de 650 millones eran obesos, representando el 40% (sobrepeso) y 15% (obesidad) por el género femenino.

Debido a esta situación las Instituciones de Salud Pública, han diseñado estrategias para disminuir el número de mujeres con estas afecciones; entre las que se encuentra el monitoreo del estado nutricional y la vigilancia de la ganancia de peso de las mujeres gestantes, para disminuir los riesgos materno-infantil, ya que ambos son consideradas poblaciones vulnerables.

2.2 Situación en México

México es uno de los países con mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad. De acuerdo a los datos publicados en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio camino (ENSANUT MC 2016), durante los últimos 28 años, la prevalencia en mujeres entre 20 a 49 años de edad con sobrepeso ha incrementado en un 42.4%, mientras que las mujeres con obesidad incremento a 290.5%. Por lo que, en el 2016, el 34.8% de la población femenina (20-49 años) presentaron sobrepeso, mientras que

el 37.4% fueron obesas (Figura 1); esta situación se agrava al considerar los datos reportados en el 2015 por el INEGI, ya que indican que el mayor número de embarazos se presenta entre los 20-35 años (20-29 con el 56.2% y de 30-37 con el 88.7%). Este aumento puede ser resultado de varios factores como, la menarca temprana (Rachón, *et al.*,2010), la alteración en los niveles hormonales que se presentan durante la etapa reproductiva (Lovejoy, 1998; Álvarez, *et al.*,2011), así como al uso de anticonceptivos (Pelkman, *et al.*,2001) y fármacos psicotrópicos (antidepresivos).

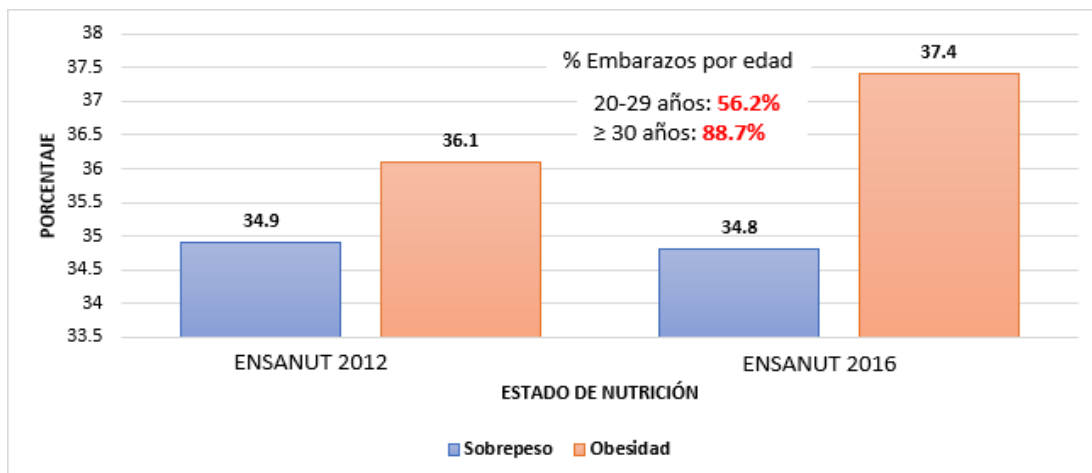


Figura 1. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres 20-49 años (ENSANUT MC 2016).

La situación anteriormente descrita, conlleva a vigilar a las mujeres en edad reproductiva que presentan alguna alteración del estado nutricional, porque las afecciones médicas relacionadas con la obesidad podrían agravarse durante la gestación, generando complicaciones perinatales afectando al binomio “madre-producto”, tales como: hemorragia obstétrica, macrosomía e hipoglucemia en el recién nacido, diabetes gestacional, preeclampsia, y eclampsia entre otras (Hernández, *et al.*,2016).

Estas complicaciones perinatales no terminan con el nacimiento, sino que continúa afectando al binomio “madre-lactante”, y podría afectar negativamente el metabolismo del infante (Lucas, 2005; Jevitt, *et al.*, 2007; Yajnik,2014).

2.3 Parámetros para determinar el estado nutricional

Para evaluar el estado de nutrición, existen diversos indicadores, entre los que se encuentra el Índice de Masa Corporal (IMC) o índice de *Quetelet*, que se utiliza de manera frecuente en los adultos (Owa y Adejuyigbe, 1997; Fedewa, *et al.*, 2018). Es la relación entre el peso y la talla y se calcula dividiendo el peso de una persona en kilogramos entre el cuadrado de su talla expresada en metros (kg/m^2). En la Tabla 1 se presentan los intervalos referidos para determinar los diferentes estados nutricios (OMS).

Tabla 1. Clasificación del estado nutricional de acuerdo al IMC

ESTADO NUTRICIONAL	IMC (Kg/m^2)
Normal	18.5-24.9
Sobrepeso	25.0-29.9
Obesidad grado I (moderada)	30.0-34.9
Obesidad grado II (severa)	35.0-39.9
Obesidad grado III (mórbida)	>40.0

Como se menciona anteriormente el IMC es el medidor antropométrico más utilizado en la investigación tanto clínica como de campo para la valoración de sobrepeso y/u obesidad, por su fácil determinación. Sin embargo, este indicador, solamente predice el peso corporal sin distinguir si proviene de la masa magra o la masa grasa (Frankenfield, *et al.*, 2001; Peltz, *et al.*, 2010). Por lo que es necesario adicionar, otro parámetro para evaluar el estado nutricional de forma precisa, como lo es, %MG. La MG, se define como la acumulación de grasa en el tejido adiposo blanco (TAB), el cual está formado principalmente por adipocitos. En el cuerpo humano, la grasa sirve de reserva e interviene en el metabolismo hormonal, entre otras funciones (Rutkowski, *et al.*, 2015).

La MG se diferencia, por su localización, en grasa subcutánea (debajo de la piel, donde se encuentran los mayores almacenes) y grasa interna o visceral (que recubre los órganos principales) (Gutierrez, *et al.*, 2002; Ibrahim, 2010). Se expresa en porcentaje del total del peso corporal y se clasifica en masa saludable y no saludable (Tabla 2). De acuerdo a los criterios de Lohman, cuando una mujer presenta un porcentaje > 32 % presenta una masa no saludable (Obesidad) (Lohman, 1993; Perichart, 2013).

Tabla 2. Puntos de corte para evaluar el porcentaje de grasa corporal.

Porcentaje de masa grasa	
Mujeres	Interpretación
< 8	No saludable (muy bajo)
9-23	Aceptable (bajo)
24-31	Aceptable (alto)
>32	No saludable (obesidad)

Modificada de Lohman, 1993; Perichart,2013

El %MG depende de diversos factores como la edad y el género. Por ejemplo, la grasa corporal incrementa durante la adultez, debido a que se produce una internalización de la grasa y un aumento del depósito. Por otro lado, considerando el género, en las mujeres el % MG es mayor desde que inicia la etapa reproductiva; esto se debe a que el cuerpo femenino se prepara para la gestación. No obstante, durante el periodo de gestación se presentan nuevas adaptaciones que le permitirán a la madre cursar de forma saludable el embarazo (Kirchengast, *et al.*, 2010).

2.4 Modificaciones fisiológicas durante el embarazo

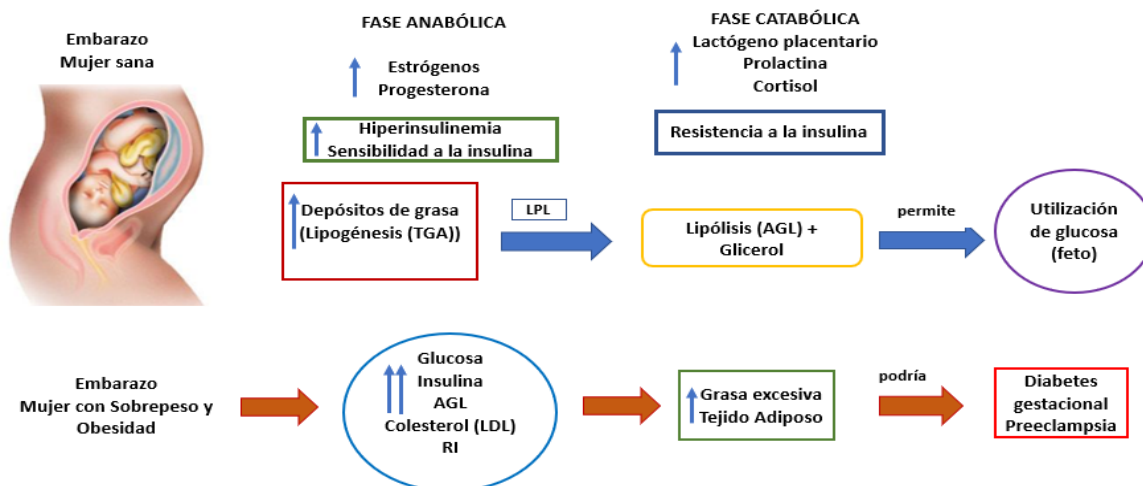
En la etapa de gestación se presentan modificaciones fisiológicas normales, con la finalidad de cubrir los requerimientos de la madre y del producto, las cuales se producen desde las primeras semanas de embarazo (Zavalza, *et al.*, 2008). Tal como, la hemodilución por lo que, la concentración de hemoglobina, el hematocrito y el conteo de glóbulos rojos, estarán disminuidos; no obstante, estos eventos mantienen el suministro de nutrimentos a través de la placenta, del cordón umbilical favoreciendo el crecimiento exponencial del feto (Soma, *et al.*, 2016; Cabero, *et al.*,2007). Entre los nutrimentos más importantes que atraviesan la placenta, se encuentra la **glucosa**, seguido de los aminoácidos y en menor proporción los **lípidos**. El metabolismo lipídico de la madre, se ve afectado durante esta etapa (Herrera y Ortega-Senovilla,2010).

Por otra parte, durante la primera mitad de la gestación se presenta una fase anabólica, debido al incremento de estrógenos y progesterona, que conducen a la **elevación de la concentración de insulina** por lo que hay una **mayor sensibilidad** a esta hormona, favoreciendo la utilización de glucosa y su almacenamiento en forma de

glucógeno. Además, se ha descrito un incremento de los depósitos de grasa (lipogénesis) principalmente en forma de triacilglicéridos (TAG), los cuales son transportados a la placenta a través de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Herrera, 2000; Zavalza, *et al.*, 2008).

En la segunda mitad del embarazo, por acción del lactógeno placentario, de la prolactina y el cortisol, se produce un estado transitorio de **resistencia a la insulina (RI)**, generando un incremento de los niveles de glucosa plasmática durante la etapa post-pandrial, sin embargo, durante el periodo de ayuno, se incrementa la gluconeogénesis y la glucogenólisis hepática, con la finalidad de mantener el aporte de glucosa para el producto (Pacheco, *et al.*, 2013; Soma, *et al.*, 2016).

En el tercer trimestre, debido al estado hipoglucémico de la madre, se distingue una fase catabólica, en la cual los TAG son hidrolizados por acción de la lipoproteína lipasa (LPL), favoreciendo un incremento de los niveles de ácidos grasos libres (lipólisis) y del glicerol (Osorio, 2000). Por lo que, en condiciones normales se presenta una **hiperlipidemia**, por el aumento de la concentración de TAG, de fosfolípidos y del colesterol (Herrera y Ortega-Sevilla, 2010; Nelson, *et al.*, 2010). Sin embargo, un perfil lipídico excesivo se asocia con un mayor nivel de estrés oxidativo contribuyendo a la disfunción endotelial y por tanto un desequilibrio en la síntesis de prostaciclina y tromboxano, lo cual podría aumentar el riesgo de desarrollar preeclampsia principalmente en mujeres con sobrepeso u obesidad (RKD, *et al.*, 2014; Spracklen, *et al.*, 2014). Por otro lado, comienza la movilización de la grasa del TAB que serán utilizadas como sustratos energéticos durante la lactancia (Osorio, 2000; Hernández, 2010). Los eventos anteriormente descritos se resumen en la Figura 2.



TGA: triacilglicéridos LPL: lipoproteína lipasa AGL: ácidos grasos libres LDL: lipoproteína de baja densidad RI: resistencia a la insulina

Figura 2. Modificaciones metabólicas durante la gestación (Modificada de Hernández, 2010)

Es importante tomar en cuenta que estas modificaciones también preparan a la madre para la etapa de lactancia materna, la cual representa un mayor gasto energético. Además, durante el puerperio, la producción láctea es la que favorece, la normalización de los niveles de glucosa, insulina, TAG y colesterol sanguíneos hasta llegar a los niveles fisiológicos considerados para una mujer sana; asimismo ayuda a la madre a la recuperación de peso. No obstante, si el estado nutricional se encuentra alterado, es probable que estas moléculas se mantengan elevadas y se vean reflejadas en la composición láctea, ocasionando un efecto negativo en el neonato (Ahuja *et al.*,2011, Young, *et al.*,2017).

2.5 Lactancia materna

Se define como el proceso fisiológico mediante el cual la madre, a través de la LM, le transfiere los nutrientes necesarios que requiere el neonato para su crecimiento y óptimo desarrollo. La LM es el alimento más adecuado para el lactante, favorece el desarrollo y maduración del sistema nervioso central y gastrointestinal, por otra parte, fortalece al sistema inmune. Y de acuerdo a la OMS se recomienda su consumo de forma exclusiva durante los primeros seis meses de vida, extendiéndose hasta los dos años como alimentación complementaria.

La LM es un fluido biológico, producido por las células secretoras (lactocitos) en la glándula mamaria, y de acuerdo a la UNICEF su producción y composición se va modificando durante la etapa de lactancia, obedeciendo mecanismos de regulación neuroendocrina (Ballard, *et al.*, 2013; Cacho, *et al.*, 2017).

2.5.1 Morfología de la Glándula Mamaria

La glándula mamaria (GM) está especializada en la secreción de leche; este órgano experimenta ciclos repetidos de desarrollo estructural y diferenciación funcional durante el embarazo y la lactancia (Hurley y Loo, 2011). La GM es un órgano exócrino, de origen ectodérmico; situada en la parte antero posterior del tórax y se conforma por tres tipos de tejido: conjuntivo, adiposo y glandular (túbulo-alveolar) Figura 3 (Eynard, *et al.*, 2008).

El tejido glandular de la GM está formado de 15-25 lóbulos (acinos), cada lóbulo presenta un conducto excretor, que al unirse con otros forman un conducto galactóforo, que converge hacia el pezón y se dilata, para formar los senos lactíferos, en donde se almacena la leche (Aguilar, 2005). No obstante, son los alvéolos la unidad funcional de la GM, ya que se encargan de la síntesis de la leche durante la lactancia; cada alvéolo, está formado por células epiteliales secretoras (lactocitos), los cuales a su vez están rodeadas de células mioepiteliales, que se contraen por acción de la oxitocina, generando el reflejo de eyección de la leche, ya que aumenta la presión en los acinos y estimula la expulsión de esta (Mobasher, *et al.*, 2013, Hovey, *et al.*, 2002).

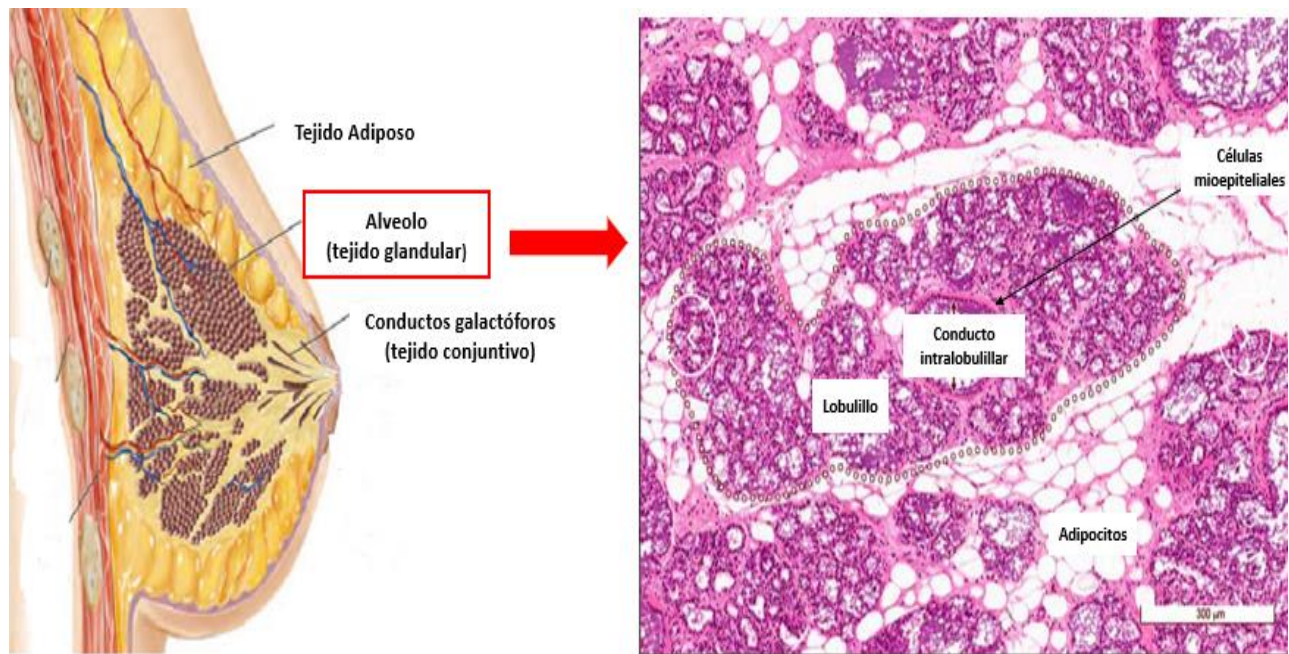


Figura 3. Histología de la glándula mamaria (Modificada de Saladin, 2013)

2.5.2. Fisiología de la glándula mamaria

La glándula permanece en estado de arresto hasta el momento de la fecundación y es en los periodos de gestación y lactancia cuando alcanza su maduración morfofisiológica, por los estímulos hormonales. Para que la glándula adquiera su característica secretora debe cursar por tres etapas o periodos: el **mamotrófico** (maduración estructural), el **lactogénico** (maduración fisiológica) y finalmente el **lactopoyético**, que corresponde a la producción y mantenimiento de la secreción (Aguayo, *et al.*, 2008; Hassiotou y Geddes, 2013).

El período **mamotrófico** comienza durante el desarrollo embrionario, con la formación de la cresta mamaria y los primordios mamarios, debido al incremento de los estrógenos placentarios. Sin embargo, el desarrollo se detiene durante la infancia por la presencia de testosterona (Fernández-Cid *et al.*, 2000; Hovey *et al.*, 2002).

El período **lactogénico** comienza desde la etapa puberal hasta la adultez, en donde se da la ramificación de los conductos, se presenta la diferenciación celular alveolar, debido a la elevación de estrógenos, progesterona y prolactina (Lawrence, 2007; Aguayo, 2008). En este período la glándula mamaria ya es capaz de secretar

leche y las concentraciones de lactosa, proteína total e inmunoglobulina aumentan (Neville, *et al.*,2001).

Finalmente, en el período **lactopoyético**, se concluye la maduración de la GM, para dar inicio a la síntesis, secreción y mantenimiento de la secreción láctea. Ya que, el descenso de estrógenos, progesterona y lactógeno placentario, permite a la hipófisis anterior liberar grandes cantidades de prolactina y cortisol, incrementándose la producción láctea. El lactante regula la producción a través del estímulo de succión, provocando la contracción de las células mioepiteliales (Lawrence, 2007; Aguayo, 2008).

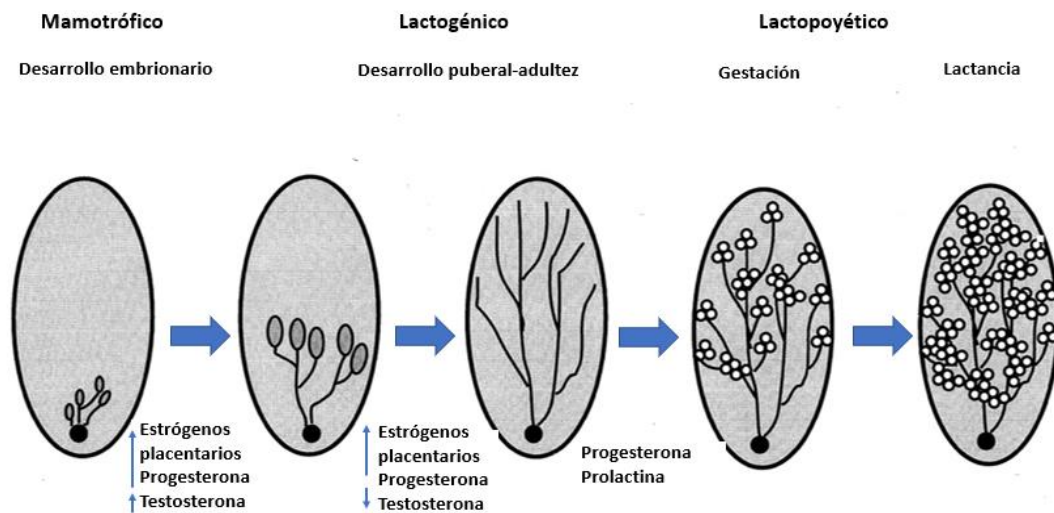


Figura 4. Desarrollo de la glándula mamaria. (Modificada de Hennighausen y Robinson, 1998)

2.5 Tipos de leche materna

La LM es una mezcla homogénea, compuesta por una fase acuosa (87%), emulsión de glóbulos de grasa (4%), la fracción micelar (0.3%) y la fracción soluble (constituyentes hidrosolubles). Dentro de la fracción lipídica se encuentran los constituyentes liposolubles (ácidos grasos, vitaminas, etc) (Picciano, 2001). La fracción micelar está formada de caseínas, calcio y fósforo, cuya función principal es cubrir las necesidades de crecimiento estructural celular del lactante, mientras que la fracción soluble está compuesta por hidratos de carbono, proteínas (anticuerpos, hormonas,

factores de crecimiento) que podrían ejercer una función biológica en el lactante (Guerra de Almeida, 2008).

Durante la lactancia la composición láctea se modifica, manteniéndose los componentes principales de este fluido (hidratos de carbono, lípidos y proteínas) (Picciano, *et al.*, 2001; Ballard, *et al.*, 2013), pero modificando la proporción en la cual se presentan tal como se observa en la Tabla 3. Por otra parte, también se ven diferencias en el volumen producido, estos cambios se dan en respuesta a los requerimientos del lactante, por lo que la UNICEF distingue tres tipos de leche: calostro, transición y leche madura.

Tabla 3. Composición de la leche materna (UNICEF).

Componente	Calostro (2-20 mL) 5-7 días postparto	Transición (600-800 mL) 8-15 días postparto	Madura (900 mL) 16 días en adelante
		g/100mL	
Lípidos	2.9	3.6	7.0
Hidratos de carbono (Lactosa)	5.3	6.6	3.8
Proteínas (caseína)	4.1	1.6	0.9
(α -lactoalbúmina)	1.6	0.5	0.25
	1.1	0.4	0.26
	μg/100mL (A) *	mg/100mL (C)**	
Vitamina A*	151	88	54
Vitamina C**	5.9	5.5	4.4
		mg/100mL	
Calcio	39	40	31
Fósforo	14	18	15
Hierro	70	40	80
Contenido energético	67 kcal	70 kcal	76 kcal

Fuente: UNICEF, 2015

Los beneficios de la LM no solo dependen de los nutrientes, sino también de la presencia de otros compuestos biológicamente activos, como los factores de crecimiento, citoquinas y hormonas. Estos compuestos pueden favorecer el desarrollo y crecimiento del lactante, dar protección inmunológica, además, de intervenir en la maduración del tracto gastrointestinal del neonato. Algunas de las hormonas secretadas en la leche, intervienen en la regulación de la ingesta de alimentos (HRIA) y el equilibrio energético. Dependiendo de la función que desempeñan se clasifican en orexigénicas, las que promueven la ingesta de alimentos y anorexigénicas las que lo inhiben (Savino, 2009).

2.6 Lactancia y Obesidad

La morbilidad perinatal relacionada con la obesidad materna continua durante la lactancia, afectando al binomio madre-lactante (Ramji, *et al.*,2016). Se ha reportado que las mujeres con obesidad presentan un retraso en la secreción láctea, ya que la lactogénesis II se retrasa, por lo que el volumen de leche es bajo en estas mujeres, debido a que hay una menor secreción de prolactina, a pesar del estímulo de succión por parte del recién nacido (Nommsen, *et al.*, 2012). La lactogénesis II se caracteriza por el incremento de la producción y secreción láctea, como consecuencia de la disminución del lactógeno placentario y de la progesterona plasmática, permitiendo la actividad metabólica sostenida de la glándula mamaria, para mantener la síntesis de los componentes lácteos (Álvarez, *et al.*, 2009). Esta situación podría provocar la pérdida de peso del recién nacido o el retardo en su crecimiento. Existen otros factores que aumentan el abandono de la lactancia materna, tales como: las dificultades mecánicas de succión y la mala postura de amamantamiento, la retención de restos placentarios y el estrés, lo que conlleva a la administración de suplementos alimenticios “sucedáneos lácteos” (Rasmussen, *et al.*, 2004).

Por otro lado, la obesidad durante el embarazo y la nutrición temprana del lactante, han demostrado tener efectos sobre la salud, pudiendo predisponer al neonato a padecer sobrepeso y obesidad en etapas posteriores de la vida (Lucas, 2005; Haschke, *et al.*, 2013; Yajnik,2014). Estudios realizados en modelos animales y estudios sistemáticos en humanos demostraron que la lactancia proporcionada por madres diabéticas, obesas o desnutridas está relacionada con alteraciones metabólicas en la descendencia como: intolerancia a la glucosa, dislipidemia, hiperinsulinemia, aumento de la presión arterial, entre otras (Plagemann, *et al.*, 2002; Yajnik, 2014; Vickers, 2014; Harding, *et al.*, 2017).

Además, algunos estudios han relacionado a la obesidad materna con la alteración en la concentración de los macronutrientes (entre el 4-10%) de la leche, en especial la composición de lípidos totales incrementa en un 6% con respecto a las mujeres eutróficas (Mäkelä, *et al.*, 2013).

Por otra parte, considerando que las moléculas bioactivas, pasan directamente, al neonato a través de la leche, y que debido a la inmadurez de la barrera intestinal neonatal su nivel de absorción y la supervivencia de estas hormonas es alto por lo que podrían desempeñar su función biológica, así que es importante considerar que si aumenta o disminuye la concentración de éstas en la secreción láctea, podría incrementar la predisposición en el infante para desarrollar obesidad, tal es el caso de la **insulina** (Ahuja *et al.*, 2011; Ley, *et al.*, 2010; Savino, 2009). Ya que existe evidencia científica de que la concentración de insulina y glucosa presente en la leche de mujeres con obesidad es mayor a la secretada en la leche de mujeres normo-peso (Ahuja *et al.*, 2011, Young, *et al.*, 2017).

2.7 Insulina

La insulina es una hormona de 51 aminoácidos, cuya masa molecular es de 5134 daltones aproximadamente. Está formada por dos cadenas: cadena A (21 aminoácidos) y cadena B (30 aminoácidos), las cuales se mantienen unidas entre sí mediante dos puentes disulfuro intermoleculares y un enlace intramolecular (Figura 5) (Davis, 2006; Mendonza, *et al.*, 2005).

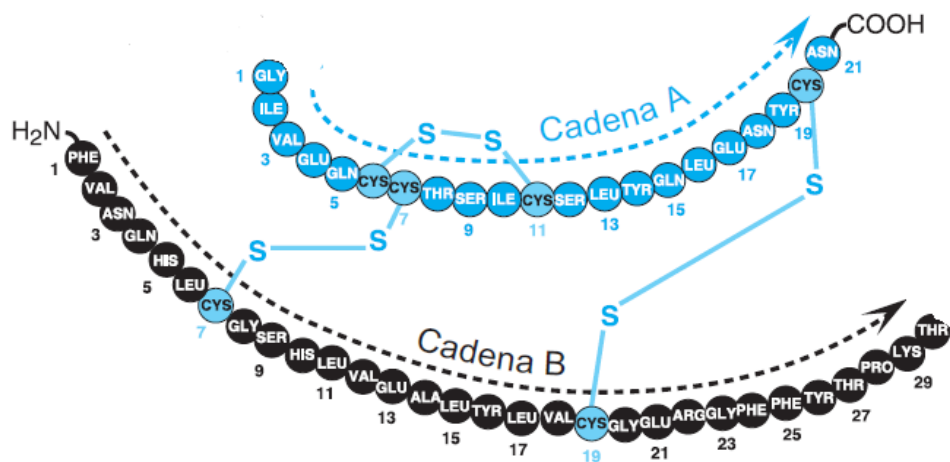


Figura 5. Estructura química de la insulina humana (Modificada de Goodman y Gilman 2006)

Esta hormona es sintetizada por las células β de los islotes pancreáticos de Langerhans, y su función principal es mantener la homeostasis de la glucosa circulante en el organismo, favoreciendo su entrada en las células y el almacenamiento

de este sustrato en el músculo, el TAB y en el hígado, además, está involucrada en el metabolismo de lípidos y proteínas (Wilcox, 2005; García, *et al.*, 2015; Gutiérrez, *et al.*, 2017).

2.8 Síntesis y secreción de la insulina

El gen que codifica el transcrito de la insulina se localiza en el cromosoma 11 y es después de la transcripción-traducción que se origina la pre-prohormona (pre-proinsulina). La pre-proinsulina (110 aminoácidos) que está compuesta por la cadena A y B, el péptido C y un péptido señal, son introducidos a la luz del RE en donde pierde su péptido señal (24 aminoácidos) por acción enzimática (peptidasas), dando como resultado la proinsulina. La proinsulina (86 aminoácidos) se pliega para formar puentes disulfuro y es transferida desde el RE al Aparato de Golgi donde es empaquetada en gránulos secretores. Posteriormente, la proinsulina pierde su péptido C por acción proteolítica, generando la insulina y péptido C de forma equimolar (Figura 6) (Wilcox, 2005 y Goodman & Gilman., 2006).

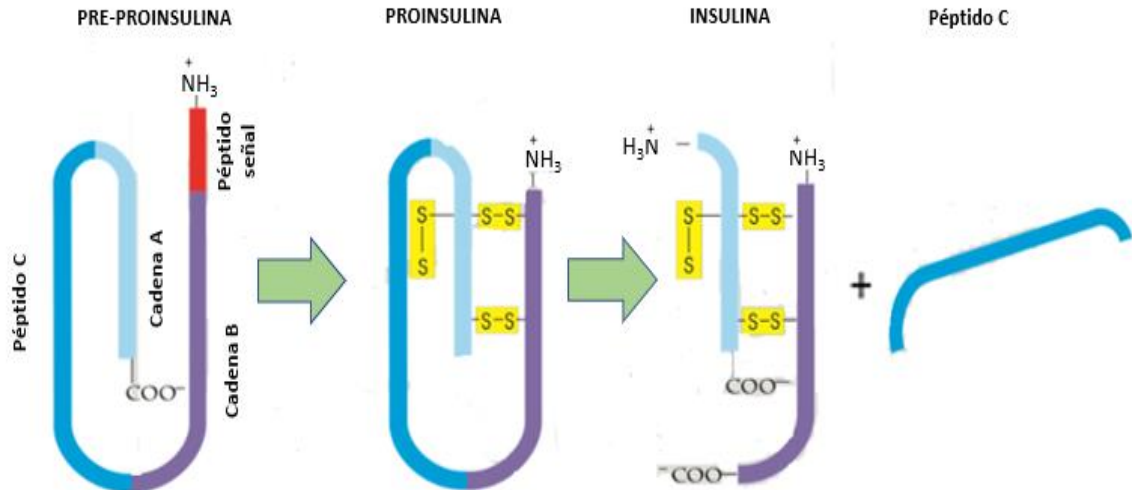


Figura 6. Síntesis de insulina

La glucosa es el principal estímulo que induce la liberación de insulina, sin embargo, existen otras moléculas como los aminoácidos, los ácidos grasos y cuerpos cetónicos que también provocan su liberación. No obstante, como ya se mencionó su función principal es permitir la entrada de la glucosa a la célula por difusión facilitada,

para lo que es necesaria la translocación de los transportadores de glucosa (GLUT) a la membrana. El transportador utilizado depende del tejido o célula que requiera el suministro de glucosa, por ejemplo, el GLUT2 se presenta en mayor proporción en las células pancreáticas y hepáticas, mientras que, en las células del TAB, del músculo esquelético y del miocardio predomina el GLUT4 (Díaz y Burgos, 2002; Sandoval, *et al.*, 2016).

La glucosa es fosforilada a glucosa-6-fosfato por acción de la glucocinasa, para desencadenar la vía glucolítica, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidante con la finalidad de aumentar los niveles de ATP. Este aumento de ATP/ADP ocasiona el cierre de los canales de K^+ dependientes de ATP y por lo tanto la despolarización de la membrana plasmática, aunado a esto se da la apertura de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. (Wilcox, 2005; Baumgard, *et al.*, 2016).

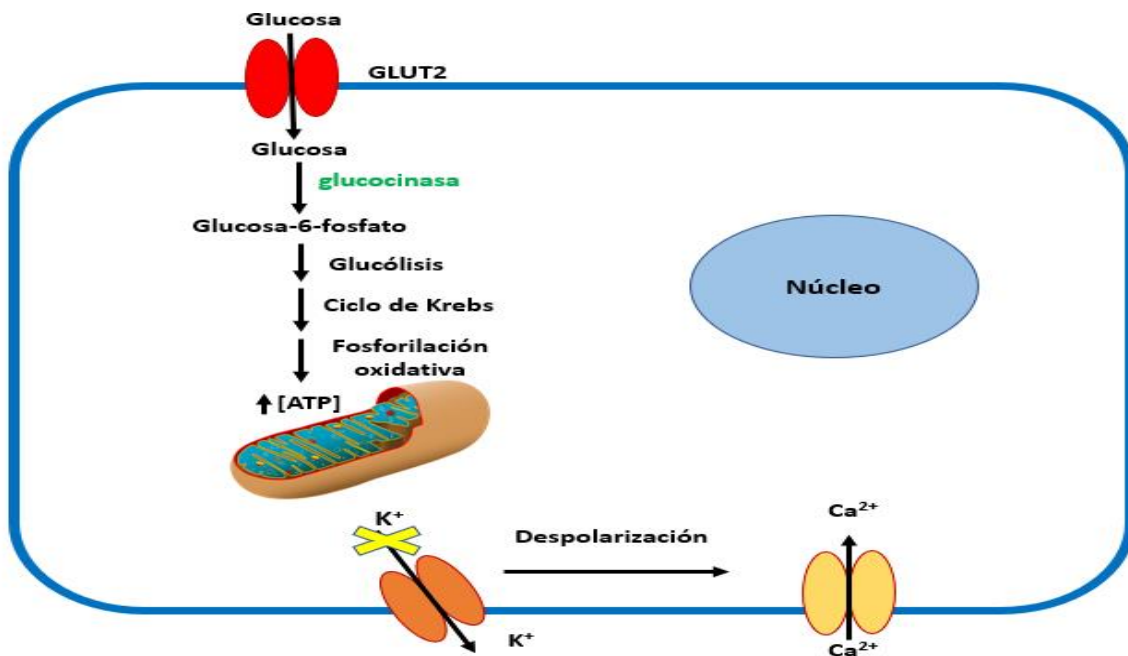


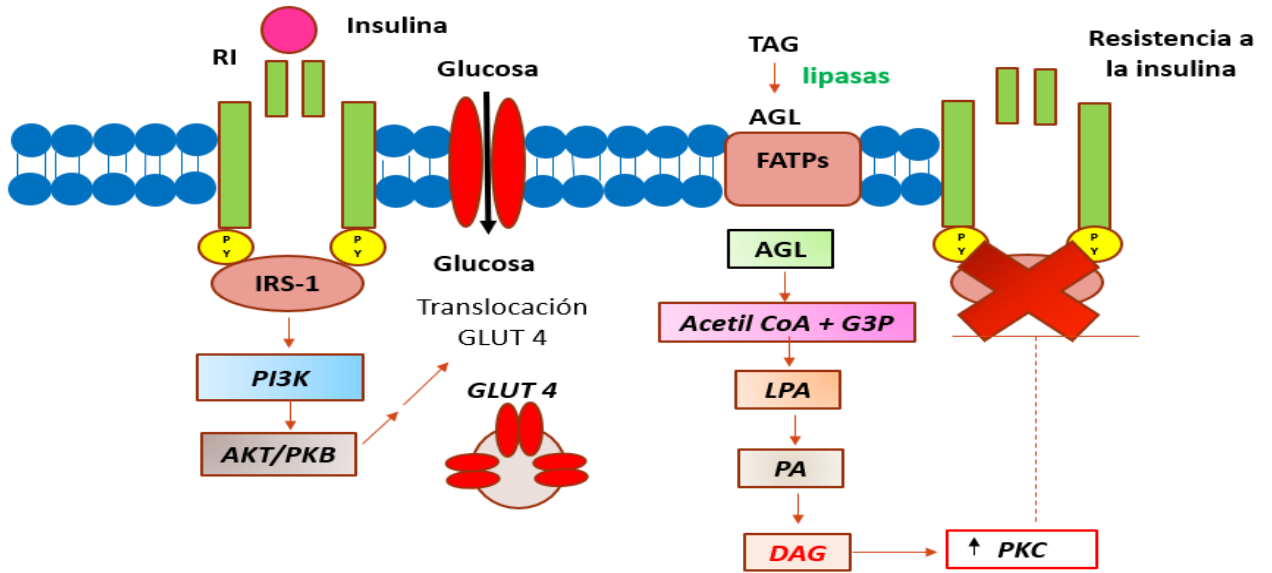
Figura 7. Secreción de la insulina (Modificada de Cantley y Ashcroft. 2015)

2.9 Vías de señalización

Existen receptores de membrana específicos para la insulina (IR), los cuales están formados por dos subunidades α y dos subunidades β que se encuentran unidas mediante puentes disulfuro. Una vez censado el incremento de glucosa, la insulina se une a su receptor generando cambios conformacionales en las subunidades α , provocando la activación y autofosforilación de las subunidades β (Mendoza, *et al.*, 2005). Esta autofosforilación con lleva a una serie de eventos de fosforilación - desfosforilación de tirosina cinasas y serina-treonina (Ser/Thr), que son encargadas de transmitir la señal de la insulina para la regulación de eventos metabólicos dentro de la célula (Olivares y Arellano, 2008).

La vía principal mediante la cual la insulina ejerce sus funciones en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos es la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K). La activación del IR permite su interacción con su sustrato (IRS-1), provocando la activación de PI3K, y a su vez del complejo de AKT/PKB cinasa, dando como resultado la traslocación del transportador de glucosa (GLUT 4) a la membrana celular, para permitir la entrada de glucosa (Wilcox,2005; Olivares y Arellano, 2008).

Por otra parte, se ha descrito que, en la vía de señalización de la insulina pueden influir otros factores; por ejemplo, la elevación de ácidos grasos libres (AGL) puede provocar la acumulación de moléculas implicadas en su reesterificación, incluida la acil-coenzima A y el diacilglicerol (DAG), el cual, se encarga de la activación de la proteína C quinasa C (PKC), provocando el bloqueo de la vía de la señalización del IRS-1, generando un estado de **RI** (Figura 8) (Boden, 2008; Perry *et al.*, 2014).



AGL: ácidos grasos libres DAG: diacilglicerol FATPs: proteínas transportadoras de AG G3P: glicerol-3-fosfato IRS-1: sustrato de receptor de insulina 1
 LPA: ácido lisofosfatídico PA: ácido fosfatídico PI3K: fosfatidilinositol-3-fosfato PKC: proteína C cinasa RI: receptor de insulina

Figura 8. Vía de señalización de la insulina (Modificada por Goodman y Gilman, 2006; Olivares y Arellano, 2008; Perry, 2014).

3. ANTECEDENTES

Se ha reportado que existe una relación proporcional entre la concentración de insulina secretada en leche con el IMC materno, haciendo énfasis en mujeres con diabetes gestacional. Sin embargo, es importante considerar que el IMC no es el mejor indicador del estado nutricional en mujeres gestantes o durante el puerperio, por las alteraciones comunes en estos periodos, tal es el caso de la retención de líquidos, lo cual podría incrementar el peso corporal y por consecuencia el IMC, por lo que se ha sugerido que el % MG sería un mejor parámetro. Además, no hay información que asocie o relacione la concentración de insulina secretada en la LM (calostro, leche de transición y leche madura) con %MG.

A continuación, se presentan algunos trabajos cuyos objetivos fueron determinar la presencia y concentración de insulina secretada en la leche materna, su relación con la insulina sérica materna y su posible asociación con el estado de nutrición materno.

Jovanovic y colaboradores en 1989, demostraron la presencia de insulina en la LM (leche madura), además, compararon la concentración de esta hormona en la leche de mujeres diabéticas, con leche proveniente de mujeres no diabéticas; concluyendo que la concentración de insulina es mayor en mujeres diabéticas (10-50 $\mu\text{UI/mL}$) en comparación con las sanas (0-13 $\mu\text{UI/mL}$). De forma similar, en el 2012 Whitmore y colaboradores, analizaron la concentración de insulina secretada en la leche de mujeres con DMT1 y DMT2 y de mujeres no diabéticas, no obstante, en este estudio no se encontraron diferencias significativas al comparar la concentración de insulina en mujeres con DMT1 con la de mujeres sanas ($p = 0.74$), ni con las que presentaron DMT2 ($p = 0.93$), además demostraron que la concentración de insulina presente en LM es similar a la que se encuentra en el suero materno.

En el 2012 Fields y colaboradores, cuantificaron diversas HRIA presentes en LM, entre ellas la insulina, para identificar si existía asociación entre la concentración de estas con el tamaño, adiposidad y masa magra del neonato. El análisis se realizó en 19 binomios madre-lactante, donde los lactantes fueron alimentados de forma exclusiva con LM durante los primeros 6 meses. Los autores encontraron una asociación negativa entre la concentración de insulina presente en leche con el peso

del lactante ($r = -0.49$, $p = 0.06$) y con la masa magra ($r = -0.53$, $p = 0.03$), pero no con la masa grasa, por lo que esta hormona podría influir en el desarrollo del lactante.

Como antecedentes directos para este trabajo, se encuentra el realizado por Ahuja y colaboradores en el 2011, que tuvo como objetivo analizar la relación entre el IMC pre-gestacional materno con los niveles de glucosa e insulina secretados en la LM. Para este estudio se reclutaron 32 mujeres, las cuales fueron agrupadas en dos grupos con base a su IMC. La recolección de las muestras de LM se realizó a las 6 semanas posparto (leche madura) y la concentración de insulina se determinó mediante ensayos de ELISA, mientras que la glucosa fue determinada por un proceso enzimático (glucosa oxidasa). Se demostró que los niveles de insulina en la leche de las madres obesas fueron significativamente más altos ($30.1 \pm 56.3 \mu\text{UI/mL}$) que la encontrada en la leche de mujeres con peso normal ($4.5 \pm 7.6 \mu\text{UI/mL}$). Por otro lado, reportaron que el IMC pregestacional se correlacionó positivamente con la insulina ($r = 0,565$, $p = 0,001$).

Finalmente, 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 estado de nutrición. Las muestras de leche fueron analizadas mediante (RIA) y se reportó que las concentraciones de insulina disminuyeron gradualmente ($p < 0.0001$), encontrándose más elevada en mujeres con sobrepeso y obesidad ($p < 0.05$) tal como se reportó en el trabajo de Ahuja, asimismo, obtuvieron una correlación positiva entre el IMC 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 $p = 0.03$, $r^2 = 0.12$). Además, en comparación con el estudio anterior, en este trabajo se encontró que la concentración de insulina secretada en leche fue más alta que en sangre a las 2 semanas ($p < 0.004$) y a los 4 meses ($p < 0.0009$).

4. JUSTIFICACIÓN

Diversas instituciones de salud recomiendan el consumo exclusivo de LM, porque contiene los componentes nutricios adecuados además de proporcionar al lactante inmunoglobulinas, factores de crecimiento y hormonas que benefician su salud y metabolismo. Por otra parte, a la LM se le ha asociado con el efecto protector contra el desarrollo de obesidad, interviniendo en la programación nutricia y favoreciendo la maduración del sistema digestivo. Este efecto protector tal vez se asocie a la secreción de HRIA en la LM, ya que conociendo su función biológica e identificando que el sistema digestivo del lactante alcanza su madurez funcional entre los 3 y 6 meses de vida extrauterina, estas hormonas podrían llegar al torrente sanguíneo y efectuar su función. No obstante, aún faltan estudios que permitan identificar de forma concluyente si estos compuestos bioactivos pueden tener un efecto real en el metabolismo del lactante y si podrían influir en su crecimiento y ganancia de peso en las etapas posteriores de la vida.

Por tanto, es importante de forma inicial, analizar y describir el comportamiento de las hormonas secretadas en la LM, tal es el caso de la insulina y conocer si el estado nutricional materno podría influir en su secreción. No obstante, es preciso recalcar que durante la etapa de puerperio el IMC, no es el mejor indicador al no distinguir entre masa magra y masa grasa, considerándose el %MG como el indicador más adecuado para evaluar el estado nutricional. Sin embargo, no existe información acerca de la relación entre la concentración de insulina secretada en la leche con la masa grasa de mujeres en etapa de lactancia. Por lo que, con este estudio se pretende describir los cambios en la concentración de insulina presente en LM (calostro, leche de transición y leche madura) y ver si existe asociación con el porcentaje de masa grasa de madres primigestas al primer mes posparto, debido a que la paridad puede influir en el almacenamiento de grasa, ya que por cada gesta se van utilizando las reservas de grasa corporal, por lo que en mujeres multíparas la movilización de la grasa es variable.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres en edad reproductiva y en infantes, el sector salud ha implementado estrategias para reducir el desarrollo de estas patologías. Sin embargo, no se ha tenido éxito debido posiblemente a la edad de intervención ya que se ha comprobado que la nutrición temprana es una forma de prevenir estos padecimientos apegándose al concepto de programación nutricia.

Por lo que es imperativo diseñar estudios que permitan identificar si existen cambios en la composición de la leche proveniente de mujeres con estados nutricios alterados. Específicamente, es importante identificar si existen cambios en la concentración de insulina ya que la exposición a altas concentraciones de insulina secretada en la leche materna y la secretada por el lactante podría predisponerlo a desarrollar alteraciones como resistencia a la insulina; aunado a esto, existen estudios que asocian negativamente la concentración de insulina con la composición corporal del infante.

Por tanto, se plantearon las siguientes preguntas de investigación:

¿Cómo cambia la concentración de insulina tanto sérica como secretada en la leche materna durante la lactancia?

¿El porcentaje de adiposidad materna influye en la secreción de insulina en la leche materna?

5. OBJETIVO GENERAL

- **Identificar** si existe asociación entre la concentración de insulina sérica y la secretada en leche materna, con el porcentaje de masa grasa materno durante primer mes posparto, para relacionar si el estado nutricional materno influye en la secreción de insulina.

OBJETIVOS PARTICULARES

- **Analizar** la concentración de insulina secretada en el calostro, la leche de transición y la leche madura de mujeres con diferente estado nutricional.
- **Evaluar** los cambios en la concentración de insulina sérica materna durante el primer mes de lactancia.
- **Determinar** los niveles de hiperinsulinemia durante el puerperio de mujeres con diferente estado nutricional.

6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Diseño de estudio

Descriptivo, Prospectivo, Longitudinal, Comparativo.

Población de estudio

Se incluyeron mujeres primigestas sanas que proporcionaron “lactancia materna exclusiva” durante el primer mes postparto, las cuales fueron captadas en las Unidades de Medicina Familiar (UMF) No. 04 y 10 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en los talleres Educativos de Embarazo.

Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se calculó a partir de los datos públicos por Young BE y colaboradores en el 2017.

Con un poder estadístico del 80%

$$n = \frac{2 (Z\alpha + Z\beta)^2 * S^2}{d^2} = \frac{2 (1.96 + 0.842)^2 * (5.2)^2}{(12.9 - 8.7)^2} = 24 \text{ por grupo}$$

- n = sujetos necesarios en cada una de las muestras
- Z_α = Valor Z correspondiente al riesgo deseado
- Z_β = Valor Z correspondiente al riesgo deseado
- S^2 = Varianza de la variable cuantitativa (insulina) que tiene el grupo control o de referencia.
- d = Valor mínimo de la diferencia (12.9-8.7) que se desea detectar (datos cuantitativos)

Aspectos éticos

Esta investigación formo parte del proyecto “Composición de la leche durante la lactancia de mujeres con sobrepeso u obesidad: macronutrientes y hormonas reguladoras de la ingesta alimenticia” el cual fue aprobado por el Consejo de Ética y la Comisión Nacional de Investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social con el número de registro **R-2015-785-046** y de acuerdo a la Ley General de Salud, fue considerado como riesgo mínimo para las participantes.

Como beneficios, a las participantes se les realizó un diagnóstico nutricio materno-infantil durante el primer mes y dependiendo del estado nutricio de la madre se le brindó asesoría, por otra parte, se les realizó un análisis de parámetros bioquímicos (glucosa, colesterol y triglicéridos).

Variables de estudio

Variables independientes

- Tipos de leche (calostro, leche de transición y leche madura), IMC, %MG.

Variables dependientes

- Concentración de insulina sérica y en leche.
- Glucosa sérica.
- Índice HOMA

Criterios

Criterios de inclusión

- Mujeres primigestas.
- Edad entre 18 y 35 años.
- Sin antecedentes de tabaquismo, alcoholismo y consumo de drogas durante el embarazo y la lactancia.
- Embarazo normo-evolutivo.
- Gestación a término ≥ 37 semanas.
- Producto único.
- Peso al nacimiento mayor a 2.5 kg.
- Lactancia exclusiva durante el primer mes de vida.
- Firma de la carta de consentimiento.

Criterios de eliminación

- Participantes que decidieron abandonar el estudio por problemas personales.
- Participantes que suspendan la lactancia por complicaciones materno-infantiles.

Grupos de estudio

Los grupos de estudio se clasificaron de acuerdo al estado de nutrición materno utilizando los criterios de la OMS.

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

b) Grupo %MG no saludable / obesas. Mujeres con %MG >32%.

Procedimientos

Invitación a voluntarias. Durante la investigación se reclutaron a las participantes en las UMF No.04 y 10 del IMSS, en los talleres de lactancia materna. Entre los tópicos que se impartieron en dichos talleres se encuentran: beneficios de la lactancia materna, nutrición durante el embarazo y lactancia, técnicas de extracción de leche, banco de leche, etc.; al finalizar las pláticas se les invito a participar en el proyecto y se llevó a cabo la selección de las participantes que cumplieran con los criterios de inclusión, a las cuales a partir de la semana 35 de gestación, se les dio un seguimiento semanal, hasta el momento del parto.

En cuanto se registró el nacimiento de los lactantes, se programaron tres visitas domiciliarias, la primera entre los días 5-7, la segunda entre el día 14 y el 15 y finalmente la tercera al mes posparto. En la primera visita, se les solicitó que firmaran la carta de consentimiento (Anexo 1), en donde se les explicaron los objetivos del estudio, el proceso de obtención de las muestras (sangre y leche), el riesgo y los beneficios que obtendrían, también se les realizó un cuestionario de datos generales (Anexo 2) y un recordatorio de alimentos de 24 horas (Anexo 3).

Registro de las mediciones antropométricas de las madres.

Se registraron las medidas de peso y talla pregestacionales de cada mujer (ya sea registrada antes del embarazo, durante el primer mes de embarazo) para realizar una clasificación preliminar por estado nutricional por IMC. No obstante, después del parto se volvieron a tomar estas medidas, así como la composición corporal, principalmente el % MG mediante bioimpedancia eléctrica BC-543 (Tanita, Inglaterra), en las mismas

fechas en que se colectaron las muestras de leche y sangre para corroborar que ubicaran dentro del mismo grupo de investigación.

Trabajo de campo

En cada visita, a las participantes se les tomó muestra de sangre periférica, por venipuntura en ayunas de entre 8 y 10 horas. Para la cuantificación de insulina sérica, 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 y una muestra de 3 mL en un tubo con EDTA para la determinación de glucosa, 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 grado hospitalario Lactina Select (Medela, USA), durante la extracción, se realizaron masajes circulares y de barrido. La leche se recibió en contenedores de vidrio previamente esterilizados, se homogeneizó y se tomaron 5 mL de la muestra y fue almacenada en un tubo falcón al que previamente se le adicionó 5 μ L de inhibidor de proteasas (Complete Protease Inhibitor Cocktail de ROCHE Mannheim, Germany) y se mantuvo en una cámara de hielo, hasta su procesamiento. Las medidas antropométricas de la madre (peso y porcentaje de masa grasa) se realizaron mediante bioimpedancia eléctrica.

Trabajo en 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, en ambas muestras, se tomaron alícuotas de aproximadamente 400 μ L que fueron almacenados en tubos Eppendorf a una temperatura de -70°C para su posterior procesamiento.

Cuantificación de insulina

A partir del suero sanguíneo y el suero de la leche, se realizó la cuantificación de insulina mediante el kit Human Insulin ELISA (Sigma-Aldrich, USA). Las muestras de suero y los reactivos, se descongelaron una hora antes de la medición y se mantuvieron a una temperatura entre 18-25°C. La sensibilidad de este ensayo es de 4 µIU/ml. El CV intra-ensayo es <10% mientras que el CV inter-ensayo es <12%.

El ensayo se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, en una placa de micro titulación de 96 pocillos recubierta con el anticuerpo de captura específico. Se añadieron 100 µL de cada estándar y de la muestra a los pocillos, incubándose toda la noche a una temperatura de 4°C con agitación suave y del anticuerpo. Posteriormente, se hicieron 4 lavados. Posteriormente se agregó el anticuerpo de detección (biotinilado), se incubó durante una hora a temperatura ambiente con agitación suave. Después de la incubación, se realizaron nuevamente los lavados y se añadió la Streptoavidina-HRP, manteniéndose en incubación 45 minutos a temperatura ambiente y se agregó el sustrato de la HRP permaneciendo durante media hora, para finalmente adicionar la solución de paro. Se midieron las absorbancias a 450 nm con el espectrofotómetro para microplacas EPOCH 2 (BioTek, USA). Finalmente, para realizar las curvas estándar y calcular las concentraciones de la insulina en cada muestra se utilizó el software Master Plex 2010 version 5.0.0.77 (Hitachi software engineering America).

Determinación de la concentración de glucosa (SPIN 120).

La concentración de glucosa se determinó en muestras de plasma, de acuerdo a los criterios del manual SPINREACT. La concentración de glucosa se reportó en (mg/dL) se analizó mediante el método de la glucosa oxidasa (GOD), que consiste en la oxidación de la glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno que se forma se detecta mediante el fenol-4-aminofenazona (aceptor cromogénico) en presencia de la peroxidasa (POD). La intensidad de color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra.

Análisis estadísticos

El análisis estadístico se realizó mediante el software SPSS Statics versión 22.0 (IBM, Armonk, New York, USA). Se analizó la distribución de los datos, para conocer cuáles presentaban distribución normal y cuáles no-normal utilizando un intervalo de confianza del 95% y un valor de alfa de 0.05 (Shapiro-Wilks). Los datos con distribución normal se expresan como medias \pm desviación estándar, mientras que aquellos que no presentan distribución normal se presentan como medianas (mínimos y máximos).

Para comparar las variables por grupo, se realizó una *t* de Student (paramétricos) o una prueba de *U* de Mann-Whitney para los valores no paramétricos. Adicionalmente, se realizó una regresión lineal por cada tipo de muestra (sangre 5-7, 14-15 y 30 días post-parto y leche calostro, transición, madura) para determinar si la edad podría tener algún efecto en la secreción de insulina sérica, o sobre la insulina secretada en la LM. Sin embargo, también se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) para corroborar si la edad materna es una variable que modifica la secreción de insulina en los diferentes tipos de muestra.

Los cambios de la concentración de insulina sérica durante el puerperio y de la insulina secretada en los tres tipos de leche, se determinaron a través de una prueba de Rangos de Friedman (Wilcoxon) ya que la distribución fue no paramétrica. Finalmente, para identificar si existía correlación entre el %MG con la concentración de insulina sérica y la secretada en la LM se realizó una prueba de correlación de Spearman.

7. RESULTADOS

Características demográficas de las participantes

En este trabajo de investigación, se incluyeron 58 mujeres en periodo de lactancia. De las cuales, en cada visita se registraron características antropométricas que se observan en la Tabla 4. Dentro de los valores registrados se encuentra el %MG (mes posparto), el cual se utilizó para estratificarlas de acuerdo a su estado nutricional, siguiendo los criterios propuestos por Lohman mencionados anteriormente. Por lo que se formaron dos grupos, el primero de mujeres con masa grasa saludable (n=28) y el segundo de mujeres con masa grasa no saludable (n=30), por lo que se puede notar que el número de pacientes por grupo es similar. Dentro de las características demográficas se observa que la edad presentó diferencias significativas entre grupos ($p = 0.005$), ya que las mujeres con mayor %MG fueron aquellas que reportaron más edad. Corroborando que la clasificación en los diferentes estados nutricionales fue la adecuada se observaron también diferencias significativas ($p < 0.050$) en los valores de IMC los cuales fueron disminuyendo durante el transcurso de la lactancia en ambos grupos. Considerando el %MG, también se obtuvieron diferencias significativas durante el primer mes post-parto; sin embargo, su comportamiento es muy variable ya que se registra un ligero incremento durante el puerperio.

Tabla 4. Características demográficas de las participantes

Característica demográfica	Saludable n= 28	No Saludable n= 30	Valor de p
Edad** (años)	25 (18, 34)	28 (18, 34)	0.005
Talla* (metros)	1.5 ± 0.05	1.60 ± 0.05	0.497
IMC pre-gestacional* (kg/m ²)	22.07 ± 2.26	27.61 ± 4.24	0.037
5-7 días posparto			
IMC* (kg/m ²)	23.57 ± 2.18	29.74 ± 3.45	0.029
%MG** (%)	27 (12.70, 33.50)	34.15 (27.7, 51)	< 0.001
14-15 días posparto			
IMC* (kg/m ²)	22.70 ± 1.95	28.54 ± 3.49	0.010
%MG** (%)	29.70 (13.30, 36.60)	38.85 (27, 48.50)	< 0.001
30 días posparto			
IMC* (kg/m ²)	22.28 ± 1.93	28.03 ± 3.48	0.004
%MG** (%)	29.35 (18.10, 30.80)	38.65 (32.10,50)	< 0.001

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

*Los datos se analizaron con una *t* student para muestras independientes.

** Los datos se analizaron con unas *U* de Mann Whitney.

Determinación de glucosa, insulina sérica, índice HOMA e insulina de la LM.

Considerando que durante el último trimestre de gestación generalmente se reporta una ligera elevación de glucosa y de insulina sérica, se decidió determinar la RI de las pacientes mediante el cálculo del índice HOMA utilizando la ecuación reportada por Matthews DR., para identificar si el estado nutricional materno modificaba estos parámetros durante el primer mes de lactancia.

$$\text{HOMA}_{\text{RI}} = \frac{\text{Insulina} \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{mL}} \right) * \text{Glucosa} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}} \right)}{22.5}$$

En la Tabla 5 se muestra la comparación de los niveles de glucosa sérica, insulina sérica, índice HOMA e insulina secretada en los diferentes tipos de leche, entre los dos grupos de estudio. Considerando que la edad de las participantes podría tener un efecto en la secreción de insulina sérica y la secretada en la LM; se realizó una regresión lineal por cada tipo de muestra obteniéndose para los días 5-7 valores de $p= 0.806$ y $p=0.241$ para insulina sérica e insulina secretada en la LM respectivamente, para los días 14-15 se obtuvo una $p= 0.423$ en la secreción de insulina sérica y en leche materna un valor de $p= 0.298$ y por último al día 30 se obtuvo una $p= 0.700$ en insulina sérica y $p= 0.388$ para insulina secretada en la leche, lo cual indica que esta variable no afecta la secreción de dicha hormona. No obstante, para corroborar que efectivamente la edad no era una covariable en la secreción de insulina, se realizó una ANCOVA, para lo que fue necesario normalizar las concentraciones de dicha hormona; obteniendo valores de $p > 0.05$ tanto en las muestras de insulina sérica, como en la insulina secretada en la leche materna en los diferentes tiempos, por lo que la edad no influye en la secreción de insulina en ambos tipos de muestra.

En la comparación entre grupos se observó que los niveles de glucosa de los tres tiempos no mostraron diferencias significativas obteniéndose valores de ($p > 0.05$). De forma similar la concentración de insulina entre los días 5-7 no mostró diferencia estadísticamente significativa, sin embargo, se obtuvo una tendencia ($p= 0.094$), y es a partir de los días 14-15 en donde se reporta que la concentración de insulina sérica es más elevada en las mujeres con %MG no saludable.

Este comportamiento se ve reflejado en el índice HOMA ya que las diferencias se alcanzan entre los días 14-15 manteniéndose así hasta finalizar el primer mes postparto y es evidente que en la mayoría de las mujeres con masa grasa saludable es menor. Adicionalmente, se muestra que la concentración de insulina secretada en los tres tipos de leche materna es diferente significativamente, manteniéndose más elevada en las mujeres con %MG no saludable.

Tabla 5. Concentración de glucosa, insulina sérica y HOMA de mujeres lactando con diferente estado nutricional

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
Insulina leche (μUI/mL)**	13.74 (3.32,23.52)	19.16 (7.31, 48.33)	0.003
HOMA**	1.41 (0.42, 8.46)	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
Insulina leche (μUI/mL)**	12.39 (7.10,21.03)	18.65 (9.45,34.82)	< 0.001
HOMA**	1.46 (0.50, 7.57)	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
Insulina leche (μUI/mL)**	11.15 (5.24,20.96)	16.51 (7.77,51.19)	< 0.001
HOMA**	1.41 (0.60, 8.81)	2.39 (0.60, 17.60)	0.002

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

*Los datos se analizaron con una *t* student para muestras independientes.

** Los datos se analizaron con unas *U* de Mann Whitney.

Determinación de la concentración de insulina sérica y la secretada en LM de mujeres con diferente estado de nutrición.

Considerando que existen evidencias de que la captación de insulina en la glándula mamaria es elevada y de que el transporte de la insulina a través de la LM se ve favorecido, durante los primeros meses de lactancia. Se ha sugerido que esta hormona podría ejercer una función metabólica en el lactante, por lo que se evaluó si existe correlación entre la insulina sérica y la insulina secretada en la LM (Figura 9). Donde se observó que la insulina sérica correlaciona positivamente con la insulina presente en los tres tipos de leche (calostro

$r=0.488$, $p<0.001$, transición $r=0.644$, $p<0.001$ y leche madura $r=0.570$, $p<0.001$) y dicha correlación se va fortaleciendo después del séptimo día post-parto.

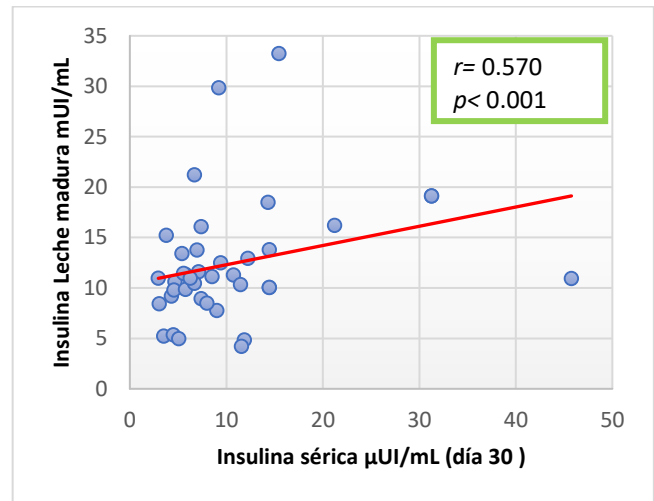
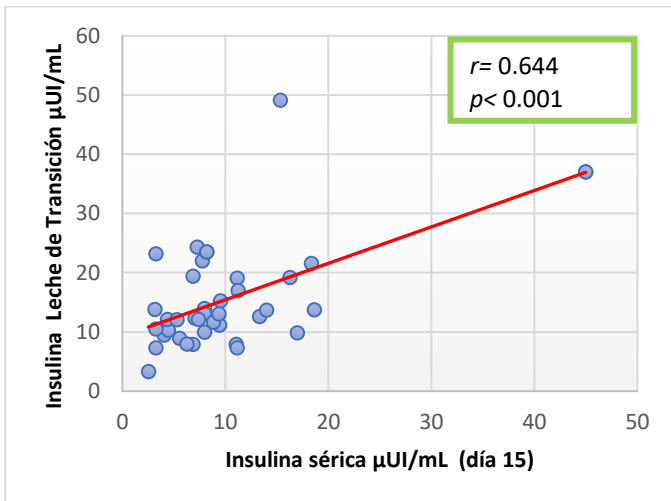
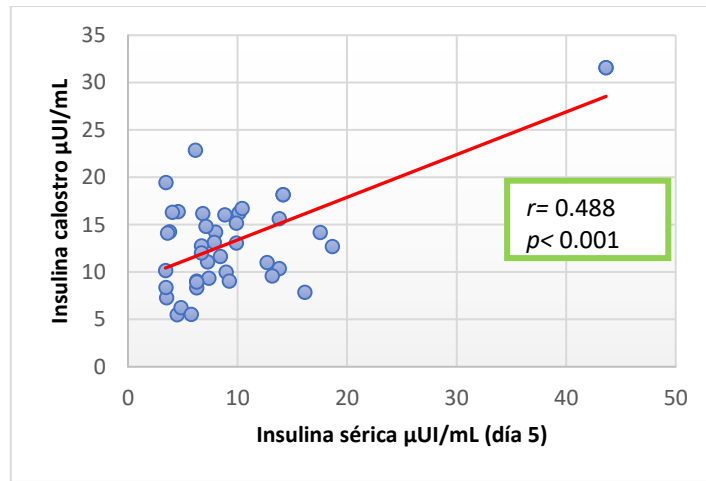


Figura 9. Correlación entre insulina sérica e insulina secretada en la leche materna.

Variaciones de la concentración de insulina sérica durante el puerperio

Para saber si tanto la concentración de insulina sérica, como la secretada en la LM se modifica durante el primer mes de lactancia y poder identificar si el estado de nutrición materno influye en dicha secreción; se realizó un análisis comparativo entre las concentraciones de insulina registrados en los tres tiempos.

En la Figura 10 se muestra que, las mujeres con %MG saludable, no presentaron diferencias significativas entre los diferentes tiempos de toma, no obstante, se aprecia que la concentración de insulina sérica va disminuyendo ligeramente durante el primer mes posparto. Este comportamiento no se observó en las mujeres con %MG no saludable, dónde los niveles reportan mayor variabilidad, registrando diferencias significativas del primer al segundo tiempo ($p= 0.002$) y de la segunda a la tercera visita ($p= 0.001$) observándose que la concentración de insulina en estas mujeres incrementó en la segunda visita (14-15 días) y finalmente disminuyó al finalizar el primer mes post-parto.

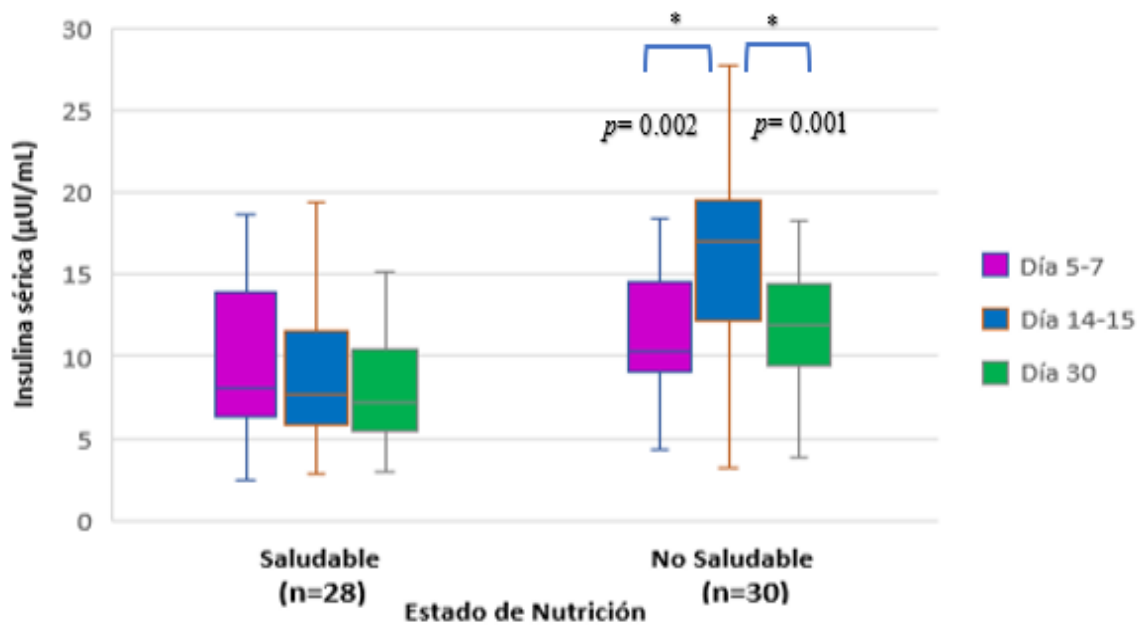


Figura 10. Cambios de la concentración de insulina sérica durante el puerperio

Variaciones de la concentración de insulina secretada en LM durante la etapa de lactancia.

Por otra parte, se comparó si la concentración de insulina secretada en el calostro, la leche de transición y la leche madura, se modificaba o si se mantenía estable durante el primer mes de lactancia (Figura 11). En esta gráfica, se aprecia que el grupo de mujeres con %MG saludable mostró diferencia significativa entre el calostro y la leche madura ($p < 0.050$), ya que la concentración de insulina secretada en la leche disminuye gradualmente.

Por otra parte, en la leche proveniente de mujeres con %MG no saludable, la concentración de insulina también es más elevada en el calostro que en la leche madura, sin embargo, sólo se registró una tendencia ($p = 0.068$) entre calostro y leche de transición es decir que, disminuye, aunque no de forma progresiva o estadísticamente significativa.

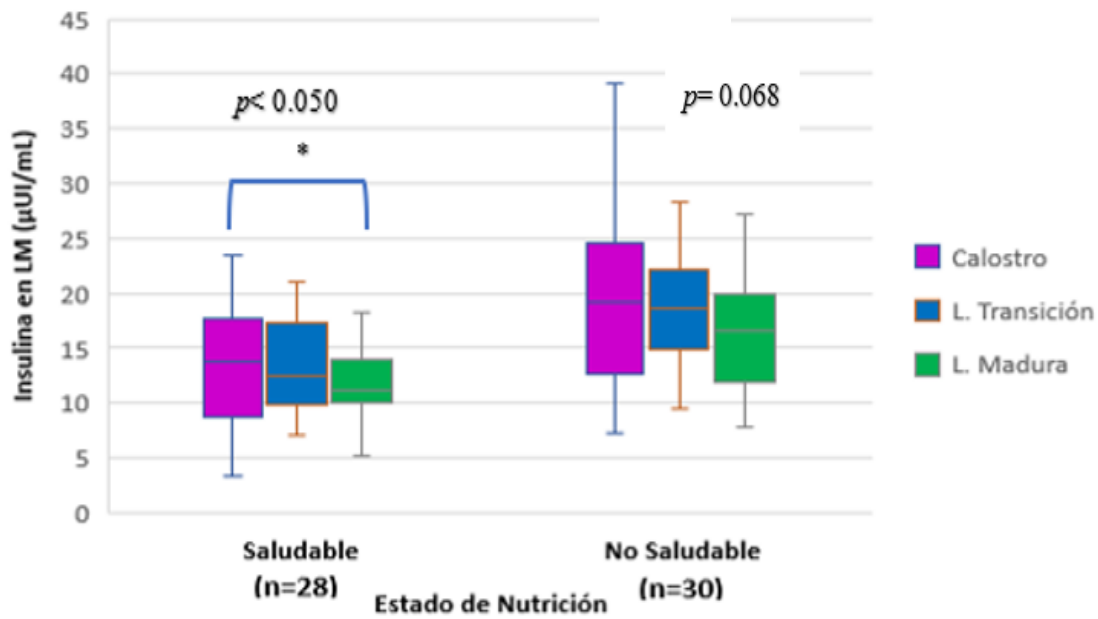


Figura 11. Cambios de la concentración de insulina secretada en la leche materna durante la etapa de lactancia.

Correlación entre el %MG materno y la concentración de insulina sérica.

De acuerdo con los resultados obtenidos es evidente que el %MG podría influir en la concentración de insulina. Por lo que se realizaron pruebas de correlación de Spearman entre el %MG con la insulina sérica al día 5 posparto (Figura 12a) y posteriormente al finalizar el primer mes (Figura 12b), con la finalidad de comprobar si existía dicha correlación e identificar si esta asociación se mantenía hasta finalizar el primer mes de lactancia, momento en el cual las participantes ya deberían haber regresado a los niveles fisiológicos.

En las figuras 12a y 12b se observa que mientras va aumentando el %MG la concentración de insulina sérica también incrementa, al día 5 la correlación fue positiva con un valor de $r= 0.303$ y un valor de $p= 0.021$, mientras que al mes posparto la correlación positiva incrementó con un valor de $r= 0.558$ y un valor de $p < 0.001$.

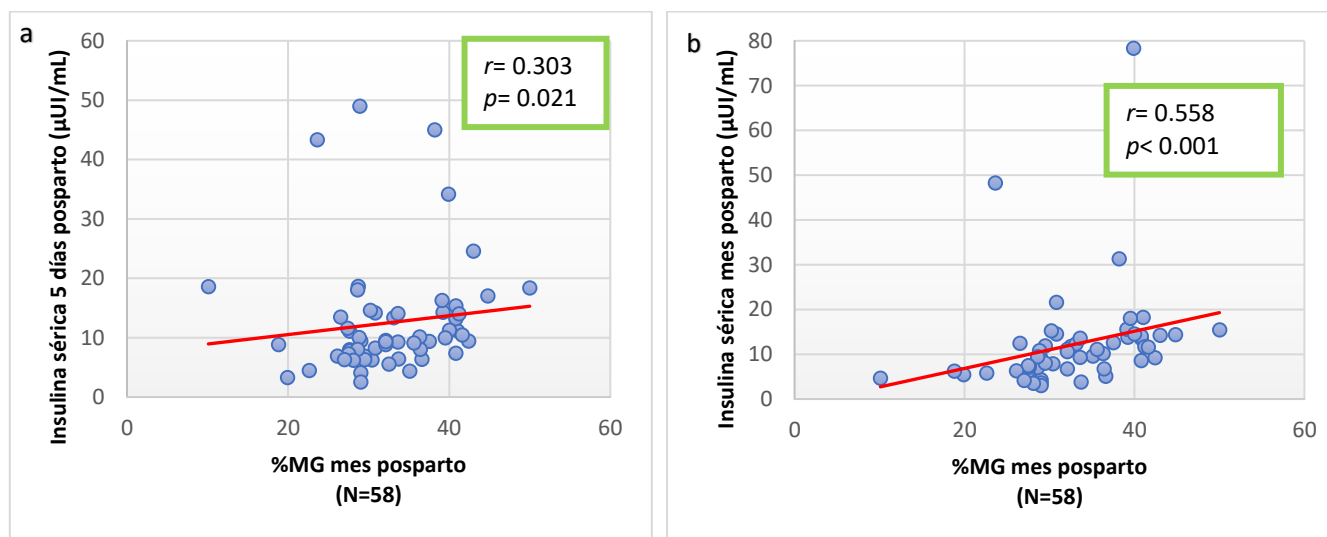


Figura 12. Correlación entre el %MG grasa e insulina sérica al mes posparto.

Correlación entre el %MG materno y la concentración de insulina secretada en la LM.

Al igual que en la insulina sérica, se realizó una correlación entre el %MG y la insulina secretada en el calostro (Figura 13 a) obteniéndose una correlación positiva con un valor de $r= 0.463$ y un valor de $p= 0.021$; adicionalmente la insulina secretada en la leche madura (Figura 13b), presenta una correlación fuerte positiva con un valor de $r= 0.558$ y un valor de $p < 0.001$. Lo cual evidencia que a medida que el %MG materno aumenta, la concentración de insulina secretada en la leche materna también registra un incremento.

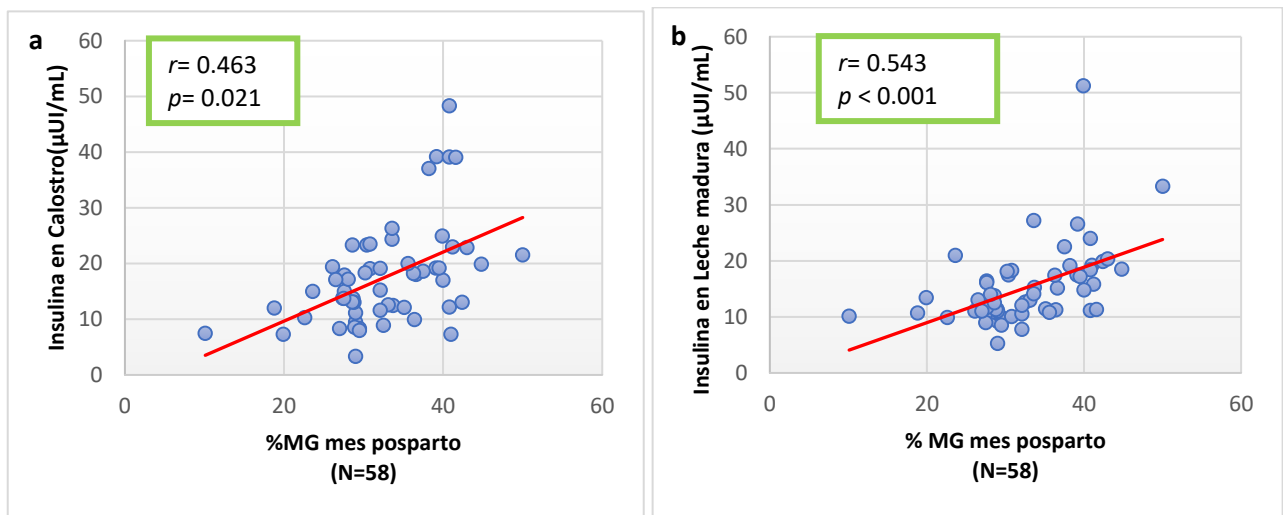


Figura 13. Correlación entre el %MG e insulina secretada en la leche materna al mes posparto.

8. DISCUSIÓN

Este trabajo de investigación tuvo como objetivo identificar si existía asociación entre la concentración de insulina sérica y la secretada en la LM con el %MG materno durante el primer mes posparto. Por lo que se captaron mujeres eutróficas y mujeres con sobrepeso y obesidad que se encontraban en periodo de lactancia diagnosticadas como clínicamente sanas durante el embarazo.

Se reclutaron un total de 58 participantes de noviembre del 2016 a diciembre del 2017, por lo que, para fines de este estudio y considerando el tamaño de muestra calculado a partir de los datos publicados por Young BE se cumplió con el número de participantes establecidos (n=24 por grupo). Por lo que se procedió a realizar la estratificación de acuerdo al %MG materno registrado al mes posparto (Tabla 4), obteniéndose una n= 28 para el grupo de mujeres con %MG saludable y una n= 30 en el de mujeres con %MG no saludable, por lo que se observa que el número de pacientes por grupo fue similar, es decir que se incluyeron poblaciones homogéneas haciendo comparables los resultados entre estados nutricios. Sin embargo, cabe mencionar que fue difícil obtener pacientes con %MG no saludable que cumplieran con los criterios de inclusión, ya que se excluyeron a aquellas que presentaron alguna complicación gestacional como el desarrollo de diabetes y preeclamsia, que de acuerdo a Miao Miao *et al.*, 2017 y Ramoniené, *et al.*,2017 son condiciones frecuentes en mujeres gestantes con sobrepeso y obesidad.

También es importante mencionar que la producción láctea en la mayoría de las pacientes con %MG no saludable fue menor que en las mujeres con %MG saludable; ya que como lo reportan diversos autores, la obesidad materna se relaciona con el inicio tardío de la lactancia, y es por esta razón que son más propensas a proporcionar a su descendencia lactancia mixta “fórmula láctea / leche materna” o abandonan la lactancia materna (Hurts, 2007; Nommsen-Rivers, 2010). Además, el hecho de que las mujeres obesas generalmente tienen partos prolongados y por cesárea, posiblemente incrementa el nivel de estrés, registrándose un incremento de cortisol y una disminución de oxitocina y prolactina; factores que podrían retrasar el periodo de lactogénesis II (Preusting, *et al.*,2017).

Los valores antropométricos registrados en la Tabla 4, muestran que el IMC materno fue mayor al inicio del puerperio en ambos grupos y disminuyó gradualmente durante el primer mes, sin considerar el IMC pregestacional referido en el expediente médico, esto se debe a que el peso de la mayoría de las pacientes disminuyó paulatinamente en las tres visitas. Y de acuerdo con Lederman y colaboradores en 1997 y Widen y Gallagher, 2014, la etapa de gestación está asociada con el aumento de peso, el cual está distribuido entre masa magra y masa grasa, aumentando la MG aproximadamente en la semana 30 de gestación (2.3 kg), con la finalidad de favorecer el crecimiento y desarrollo del producto, además de proporcionar suficientes reservas de grasa las cuales son utilizadas durante el periodo de lactancia materna; por lo que tienden a disminuir conforme avanza la lactancia.

Por otra parte, la edad es otro factor que podría influir en el %MG, ya que las mujeres que registraron una mayor edad presentaron un mayor %MG, por lo que se obtuvieron diferencias significativas entre los dos grupos ($p=0.005$). Coincidiendo con lo reportado por Gába y Priladová, en el 2014, que indican que conforme va aumentando la edad en las mujeres, presentan una mayor acumulación de grasa, debido a que su metabolismo disminuye y a la disminución de estrógenos. Sin embargo, también se observó que el %MG fue muy variable durante el puerperio, registrándose un ligero incremento al finalizar el primer mes. Posiblemente esto se debe a que las participantes presentaron una disminución de masa muscular en lugar de masa grasa o al consumo de una mayor cantidad de alimentos hiperenergéticos, ya que en los primeros días posparto tenían un mayor control o restricción en su alimentación, además el nivel de hidratación de las mujeres lactantes al inicio puede no ser el adecuado.

Por otro lado, los datos mostrados en la Tabla 5 evidencian que los niveles de glucosa durante el puerperio no registraron diferencias significativas entre las mujeres lactantes con diferente estado nutricional. Posiblemente esto se debe a que, durante los primeros días posparto, su metabolismo aún se encuentra modificado o desestabilizado, porque en que en el último trimestre de la gestación se puede registrar elevación de la glucosa de forma normal dichas mujeres. Sin embargo, es importante notar que, los niveles de glucosa registrados en ambos grupos de estudio se

encontraron dentro de los límites referidos por la OMS para una mujer sana: 75-100 mg/dL. Aunado a esto, es interesante considerar que posiblemente los niveles de glucosa son similares en ambos grupos, porque durante el periodo de lactancia la glucosa es requerida para funciones específicas; por ejemplo, parte de la glucosa sérica materna es absorbida por la glándula mamaria (60-85%), ya que se requiere para el mantenimiento de la producción láctea, específicamente con la ayuda de la UDP- galactosa se efectúa la síntesis de lactosa el cual es el disacárido principal de la leche materna; además interviene en la síntesis ácidos grasos que tiene lugar en la glándula mamaria durante la lactancia; lo cual podría favorecer al descenso de glucosa sérica materna (Zhao, 2013).

Por otra parte, la concentración de insulina sérica en los días 5-7 mostró una tendencia ($p= 0.094$) a incrementar, ya que durante último trimestre de gestación se presenta una ligera elevación de esta hormona y esta elevación puede permanecer durante el puerperio (Homko *et al.*, 2001 y Sonagra *et al.*, 2014). Sin embargo, se registraron cambios a partir de los días 14-15 en las mujeres con %MG no saludable, evidenciando que la concentración de insulina sérica permanece incrementada en estas participantes. Esto puede deberse principalmente a el estado nutricio en el que se encuentran, ya que varios autores entre ellos Schindler T. *et al.*, 2006 han reportado que la obesidad se asocia con la intolerancia a la glucosa, mayor secreción de insulina, así como con resistencia a la insulina debido a que el tejido adiposo es insulino-sensible, por lo que la insulina promueve la acumulación de TAG en los adipocitos. Además, nuestros datos también concuerdan con lo reportado por Young BE *et al.*, 2017, que analizó la concentración de insulina sérica de mujeres que se encontraban en etapa de lactancia, la cual fue más elevada en las participantes que presentaban un IMC mayor a 25 kg/m².

Por lo que también fue importante, considerar los valores calculados para el índice HOMA, ya que se observa que al igual que en la insulina sérica hay una tendencia a los días 5-7 entre ambos grupos ($p= 0.087$) a ser más elevada en mujeres con obesidad, no obstante, a partir de los días 14-15 se aprecia que en las mujeres con %MG no saludable los valores de HOMA son más altos, manteniéndose así hasta el día 30 posparto, tal como se reportó en el estudio de Young BE en el 2017. No obstante,

es importante mencionar que para determinar si alguna de las participantes presentaba hiperinsulinemia, en este trabajo se utilizó un punto de corte de $> 12 \mu\text{UI/mL}$ (Carmina y Lobo, 2004) por lo que es importante notar que la mayoría de las participantes no presentaron hiperinsulinemia. Por tanto, se sugiere que la lactancia materna favorece la regulación del metabolismo materno, incluyendo el de la glucosa en cual interviene la insulina (Stuebe, 2009).

Adicionalmente la concentración de insulina secretada en la leche desde el inicio de la lactancia se encontró más elevada en el grupo de mujeres con %MG no saludable presentando diferencias estadísticamente significativas. Estos hallazgos son importantes ya que se ha reportado que la leche tiene un efecto protector contra el desarrollo obesidad y diabetes, sin embargo, niveles elevados de esta hormona en la leche podrían tener efectos negativos a largo plazo sobre el metabolismo del lactante.

Para identificar si la concentración de insulina sérica influye en la concentración de insulina secretada en la leche materna, se realizó una prueba de correlación de Spearman. En la figura 9 se evidencia que a medida que incrementa la concentración de insulina sérica materna, incrementa la secreción de esta hormona en la leche materna, ya que al correlacionar las muestras correspondientes a las tres visitas se obtuvieron valores de $p < 0.001$. Por lo que se sugiere se ven 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 leche materna; ya que existen estudios que han demostrado que la sensibilidad de glándula mamaria a la insulina varía a lo largo del ciclo reproductivo femenino, presentándose en la etapa de lactancia un aumento de los receptores insulina en la glándula mamaria (Neville *et al.*, 2013; Nommsen-Rivers, 2016).

Aunado a esto se ha reportado que esta hormona es un importante regulador de la secreción láctea en el epitelio mamario (Neville, *et al.*, 2002). Por lo que es posible que la mayor concentración de insulina en la leche materna esté relacionada con el importante papel de esta hormona en la lactancia, ya que hay datos generados a partir de modelos animales que demostraron un papel de la insulina en el mantenimiento de la secreción de leche durante esta etapa (Robinson *et al.*, 1977; Ray, *et al.*, 1981; Ley,

et al., 2010; Nommsen-Rivers, 2016). Además, es indispensable la interacción de la insulina con el IR para la diferenciación mamaria completa en la última etapa del embarazo, además, se ha descrito que la insulina actúa para mejorar la diferenciación de las células secretoras y disminuir la proliferación a partir de la segunda mitad del embarazo (Neville, *et al.*, 2013); y por esta razón, es posible que la hiperinsulinemia característica de la obesidad tenga efectos perjudiciales en la diferenciación de las glándulas mamarias, lo que lleva a un deterioro de la lactancia.

Por otra parte, se ha sugerido que la insulina secretada en la leche materna podría ejercer su función biológica en el lactante, al mantenerse íntegra durante el proceso de digestión dado que el sistema digestivo infantil alcanza su completa maduración entre los 3 y 6 meses de edad. Por ejemplo, existen estudios que reportan una asociación negativa entre la concentración de insulina presente en la leche con el peso del lactante al nacer, reportando niños con bajo peso ($r = -0.49$, $p = 0.06$) y con la disminución de la masa magra ($r = -0.53$, $p = 0.03$), pero no con la masa grasa y por tanto impacta en la composición corporal del lactante (Fields *et al.*, 2012)

Por otro lado, en este estudio se analizaron los cambios en la concentración de insulina sérica y la secretada en la leche materna durante el primer mes posparto (Figura 9). En el grupo de mujeres con %MG saludable a pesar de que no se registraron diferencias significativas en los tres tiempos posiblemente por la dispersión de los datos, se observa que la concentración de insulina va disminuyendo ligeramente. No obstante, en los trabajos de Hyatt *et al.*, 2017 en un modelo murino y Butte *et al.*, 1998 en humanos reportaron que la concentración de insulina en la leche disminuye significativa y gradualmente durante diferentes etapas de la lactancia. Sin embargo, en el grupo de mujeres con %MG no saludable la concentración de insulina sérica es muy variable, ya que se observa que la concentración se elevó del periodo de los 5-7 días a los 14-15 días y posteriormente disminuyó del periodo 14-15 días hacia el mes posparto, esto nos podría indicar que el metabolismo materno en las mujeres con obesidad tarda más en regularse debido a que esta es una alteración metabólica; ya que de acuerdo con Catalano, *et al.*, 2005 y Ruud, *et al.*, 2017 niveles elevados de insulina, se asocian con intolerancia a la glucosa, disminución de la sensibilidad a esta hormona y por tanto al desarrollo de resistencia a la insulina, además es importante

notar que entre los días 14-15, la glucosa también aumentó por lo que hay una mayor secreción de insulina en ese periodo.

En cuanto a la concentración de insulina secretada en el calostro, la leche de transición y la leche madura en el grupo de mujeres con %MG saludable la concentración disminuye significativamente del calostro a la leche madura. Por otra parte, en el grupo de mujeres con %MG no saludable, el descenso de la concentración fue menos evidente registrando únicamente una tendencia a disminuir entre la leche de transición y la leche madura. El comportamiento de ambos grupos no coincide con lo reportado por Ley, *et al.*, 2012, el cual menciona un descenso significativo en las concentraciones de la insulina secretada en la leche materna; sin embargo, es importante mencionar que en este estudio no estratificaron a las pacientes por estado nutricional materno. Esta información ha permitido sugerir que el lactante requiere de un mayor aporte exógeno de insulina durante los primeros días de vida, donde la secreción de esta hormona aún no se encuentra normalizada. Aunado a esto, es importante considerar que durante los primeros 6 meses de vida, el sistema digestivo infantil se encuentra inmaduro produciéndose una menor secreción de enzimas pancreáticas y ácido gástrico, esto favorece el transporte de insulina en su forma activa a través de la mucosa intestinal y puede ser absorbida por los enterocitos en donde se expresan receptores de dicha hormona, estimulando así la maduración intestinal, así como otros efectos sobre el lactante (Lebenthal, *et al.*, 1983 y Shehadeh, *et al.*, 2002; Shamir, 2013).

Finalmente, se realizó la correlación entre el %MG materno al mes posparto y la concentración de insulina sérica y con la secretada en la leche materna en los días 5-7 y al día 30 ya que de acuerdo a nuestros resultados es evidente que la adiposidad influye en la concentración de insulina. En la Figura 11a y 11b se observa que las gráficas de correlación entre el %MG y la concentración de insulina sérica en los primeros siete días y al día 30 se comportan de forma similar ya que a medida que incrementa el %MG la concentración de insulina también se eleva por lo que observo una asociación directamente proporcional. Por lo que es importante considerar que esta relación es fuerte debido al alto contenido de tejido adiposo que presentaron las pacientes durante el puerperio, y al ser este un tejido insulino-sensible podría relacionarse con los niveles elevados de secreción de insulina; no obstante, sería

importante identificar el tipo de grasa corporal que predomina en cada paciente ya que de acuerdo a algunos autores, el predominio de grasa visceral es la que se relaciona con el aumento de insulina e insulinoresistencia (Zimmet, *et al.*, 1996). Es decir que la relación entre el cantidad y ubicación de los depósitos de grasa y la RI es compleja y puede depender de alteraciones en el número de IR, como en la actividad de los postreceptores (Schwartz, *et al.*, 1997). Adicionalmente, es importante recalcar que la correlación en los primeros días posparto es menor que al mes, esto podría deberse a que entre los días 5-7 la concentración de insulina sérica en ambos grupos de estudio fue similar dado que su estado fisiológico se encontraba aún modificado por la etapa de gestación.

Finalmente, en la Figura 12 se observa que la secreción de insulina en la leche materna también se asocia positivamente con el %MG materno. Este comportamiento es similar a lo reportado por Ahuja *et al.*, 2011; Whitmore *et al.* 2012; Fields *et al.*, 2017 y Young BE. *et al.*, 2017, sin embargo, ellos encontraron únicamente una asociación positiva con el IMC pregestacional y la insulina secretada en la leche madura, mientras que nosotros utilizamos el %MG como indicador del estado nutricional, además de identificar si existen cambios en su secreción durante el primer mes de lactancia. Los resultados indican que el estado de nutrición y la adiposidad influyen en la concentración de insulina; por lo que se deberían de vigilar los niveles de insulina secretados en la leche, ya que niveles elevados de insulina en la LM podrían tener un efecto negativo sobre el metabolismo del lactante predisponiéndolo a desarrollar sobrepeso u obesidad en etapas posteriores.

Pues se ha reportado por algunos autores como Fields *et al.*, 2012, una asociación negativa con el peso y el porcentaje de masa magra del lactante, pero no con la masa grasa. Por tanto, este trabajo permite plantear las bases para desarrollar estrategias que permitan disminuir la prevalencia de obesidad materno-infantil.

PERSPECTIVAS

Sería interesante monitorear el crecimiento del lactante a largo plazo (3 años) porque podría permitir comprender el efecto real de la insulina secretada en la leche materna sobre su metabolismo, además se podría medir el %MG del neonato y analizar la relación existente con dicha hormona y con la adiposidad de la madre.

También se podría determinar la concentración de otras hormonas que son secretadas en la leche materna y evaluar si hay alguna relación con la insulina.

9. CONCLUSIONES

- El %MG materno al mes posparto se asocia positivamente con la concentración de insulina sérica y los tres tipos de la leche materna, sin importar el estado nutricional materno.
- La secreción de insulina en la leche materna se ve favorecida durante la lactancia en mujeres con %MG saludable y no saludable, por lo que muestran mayor concentración en comparación con la insulina sérica.
- La concentración de insulina secretada en la leche materna va disminuyendo paulatinamente durante la lactancia.
- La concentración de insulina sérica en mujeres con %MG no saludable no se estabiliza durante el puerperio.
- De acuerdo con el punto de corte para determinar la hiperinsulinemia ninguna participante, presentó esta alteración.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguayo J., Gómez A., Hernández MT., Lasarte JJ., Lozano MJ., Pallás CR. Manual de lactancia materna de la teoría a la práctica. 1ª Ed. Editorial Panamericana. 2008; pp 61-66.
2. Aguilar J. Lactancia Materna. 3ª Ed. Elsevier. 2005; pp 38-50.
3. Álvarez A., Pérez H., Martín T., Quincosa J., Sánchez A. Fisiología animal aplicada. 1ª Ed. Editorial Universidad de Antioquia. 2009; pp 131.
4. Álvarez-Castro P., Sangiao-Alvarellos S., Brandón-Sandá I., Cordido F. Función endócrina en la obesidad. *Endocrinología y Nutrición*. 2011;58(8):422–432.
5. Ahuja S., Boylan M., Hart SL., Román-Shriver C., Spallholz JE., Pence BC., Sawyer BG. Glucose and Insulin Levels are Increased in Obese and Overweight Mothers' Breast-Milk. *Food and Nutrition Sciences*. 2011; 2 :201–206.
6. Albuquerque D., Stice E., Rodríguez-López R., Manco L., Nóbrega C. Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. *Molecular Genetics and Genomics*. 2015;290(4):1191–221.
7. Ballard O., Morrow AL. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatric Clinics NA*. 2013; 60(1):49–74.
8. Barbour LA., McCurdy CE., Hernandez TL., Kirwan JP., Catalano PM., Friedman JE. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(2): 112-119.
9. Baumgard LH., Hausman GJ., Sanz Fernandez MV. Insulin: Pancreatic secretion and adipocyte regulation. *Domestic Animal Endocrinology*. 2016; 54:76–84.
10. Boden G. Obesity and Free Fatty Acids. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2008; 37(3):635–46.
11. Butte N., Garza C., Burr R., Goldman A., Kennedy K., Kitzmiller J. Milk Composition of Insulin-Dependent Diabetic Women. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 1987; 6(6):936–941.

12. Butte NF., Hopkinson JM., Mehta N., Moon JK., Smith OE. "Adjustments in energy expenditure and substrate utilization during late pregnancy and lactation." *American Journal of Clinical Nutrition*. 1999;69(2):299–307.
13. Cabero L., Saldivar D., Cabrillo E. *Obstetricia y Medicina Materno-Fetal*. Primera Ed. Editorial Panamericana; 2007; p. 225–229.
14. Cacho NT., Lawrence RM. Innate immunity and breast milk. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8.
15. Cantley J., Ashcroft FM. Q&A: Insulin secretion and type 2 diabetes: Why do β -cells fail?. *BMC Biology*. 2015;13(1):1–7.
16. Carmina E., Lobo RA. Use of fasting blood to assess the prevalence of insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*. 2004; 82(3):661–665.
17. Casanueva E., Kaufer M., Pérez A., Arroyo P. *Nutriología Médica*. 3ª ed. Editorial Panamericana; 2008; pp. 350–357.
18. Catalano KJ., Bergman RN., Ader M. Increased Susceptibility to Insulin Resistance Associated with Abdominal Obesity in Aging Rats. *Obesity Research*. 2005; 13(1):11-20.
19. Colomiere M., Permezel M., Lappas M. Diabetes and obesity during pregnancy alter insulin signalling and glucose transporter expression in maternal skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2010; 44(4):213–223.
20. Davis S. Insulina, Hipoglucemiantes orales y propiedades farmacológicas del páncreas endócrino. En. Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª ed. Editorial McGraw-Hill. 2006; pp 1613-1619.
21. Dávila- Torres J., González-Izquierdo JJ., Barrera A. Panorama de la obesidad en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2015; 53(2):241–249.
22. Díaz DP., Burgos LC. ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?. *IATREIA*. 2002;15(3):179–89.
23. Encuesta Nacional de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC 2016)

24. Eynard AR., Valentich MA. y Rovasio RA. Histología y Embriología del ser humano: Bases celulares y moleculares. 4ª Ed. Editorial Panamericana. 2008; pp 557
25. Fedewa MV., Nickerson BS., Esco MR. Associations of body adiposity index, waist circumference, and body mass index in young adults. *Clinical Nutrition*. 2018 ;6–11.
26. Fernández-Cid A. Mastología. 2ª Ed. Editorial Masson. 2000; pp 16-19).
27. Fields DA., Demerath EW. Relationship of insulin, glucose, leptin, IL-6 and TNF- α in human breast milk with infant growth and body composition. *Pediatric Obesity*. 2012;7(4):304–12.
28. Fields DA., George B., Williams M., Whitaker K., Allison DB., Teague A., Demerath EW. Associations between human breast milk hormones and adipocytokines and infant growth and body composition in the first 6 months of life. *Pediatric Obesity*. 2017;12(August):78–85.
29. Frankenfield DC., Rowe WA., Cooney RN., Smith JS, Becker D. Limits of Body Mass Index to Detect Obesity and Predict Body Composition. *Nutrition*. 2001; 17(1):26–30.
30. Gába A., Priladová M. Age-related changes in body composition in a sample of Czech women aged 18 – 89 years: a cross-sectional study. *European Journal of Nutrition*. 2014; 53(1):167–76.
31. Gaggini M., Carli F., Gastaldelli A. The color of fat and its central role in the development and progression of metabolic diseases. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. 2017;31(1):1–14.
32. García M., Iglesias M. Moratinos J. Fármacos antidiabéticos. Insulinas y antidiabéticos orales. En. Velázquez. *Farmacología básica y clínica*. 18ª Ed. Editorial Panamericana. 2015, pp 621-625.
33. Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª Ed. Editorial McGraw-Hill. 2006; pp 1614.
34. González-Moreno J., Juárez-López JS., Rodríguez-Sánchez JL. Obesidad y embarazo. *Revista Médica MD*. 2013;4(4):269–275.
35. Guerra de Almeida J. La leche humana: un híbrido biológico social. En P.C. Aguayo J., Gómez A., Hernández T., Lasarte T., Lozano J. *Manual de Lactancia*

- Materna de la teoría a la práctica. 1ª Ed. Editorial Panamericana.2008, pp 68-72.
36. Gutierrez S., Orozco G., Rodríguez E., Siordia J., Camacho R. La grasa visceral y su importancia en obesidad. *Endocrinología y Nutrición*.2002;10(3):121–127.
 37. Gutiérrez-Rodelo C., Roura-Guiberna A., Olivares-Reyes JA. Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: una actualización. *Gaceta Médica de México*. 2017; 153: 214-28.
 38. Harding JE., Cormack BE, Alexander T, Alsweiler JM, Bloomfield FH. Advances in nutrition of the newborn infant. *The Lancet*. 2017; 389:1660–1668.
 39. Harrison TR. Principios de Medicina Interna.15ª Edición. Vol. I y II. Editorial McGraw-Gill. 2002; pp: 2467
 40. Haschke F., Steenhout P., Grathwohl D., Haschke-Becher E. Evaluation of growth and early infant feeding: a challenge for scientists, industry and regulatory bodies. *World Rev Nutr Diet*. 2013;6:33–38.
 41. Hassiotou F, Geddes D. Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. *Clinical Anatomy*.2013, 26(1):29–48.
 42. Hernández AG. Tratado de Nutrición: tomo III Nutrición humana en el estado de salud. Segunda Ed. Editorial Panamericana. 2010; pp. 135–143.
 43. Hennighausen L., Robinson GW. Think globally, act locally: the making of a mouse mammary gland. *Genes & Development*. 1998; 12: 449-455.
 44. Hernández S., Pérez O, Balderas L., Martínez B., Salcedo A., Ramírez R. Enfermedades metabólicas maternas asociadas a sobrepeso y obesidad pregestacional en mujeres mexicanas que cursan con embarazo de alto riesgo. 2016; 85(4):292-298.
 45. Herrera E. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. *European Journal Clinical Nutrition*. 2000; 54:47–51.
 46. Herrera E., Ortega-Senovilla H. Maternal lipid metabolism during normal pregnancy and its implications to fetal development. *Clinical. Lipidology*. 2010; 5:899–911.

47. Homko C., Sivan E., Chen X., Reece EA., Boden G. Insulin Secretion during and after Pregnancy in Patients with Gestational Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2001 ;86(2):568–73.
48. Hovey RC., Trott JF., Vonderhaar BK. Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2002;7(1):17–38.
49. Hurley WL., Looor JJ. Growth, Development and Involution. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2011; 3:338–345.
50. Hurst NM. Recognizing and Treating Delayed or Failed Lactogenesis II. *American College of Nurse-Midwives*. 2007;52(6):588–594.
51. Hyatt HW., Zhang Y., Hood WR., Kavazis AN. Lactation has persistent effects on a mother's metabolism and mitochondrial function. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1–13.
52. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: Structural and functional differences. *Obesity Reviews*. 2010;11(1):11–18.
53. Jevitt C., Hernandez I., Groër M. Lactation Complicated by Overweight and Obesity: Supporting the Mother and Newborn. *Journal Midwifery Women's Health*. 2007; 52(6):606–613.
54. Jovanovic-Peterson L., Fuhrmann K., Hedden K., Walker L., Peterson C. Maternal milk and plasma glucose and insulin levels: studies in normal and diabetic subjects. *Journal of the American College of Nutrition*. 1989;8(2):125–131.
55. Kirchengast S. Gender Differences in Body Composition from Childhood to Old Age: An Evolutionary Point of View. *Journal Life Science*. 2010;2(1):1–10.
56. Lawrence RA., Lawrence RM. *Lactancia Materna: una guía para la profesión médica*. 6ª Ed. Editorial Elsevier. 2007; pp 68-94.
57. Lebenthal E., Lee PC., Heitlinger LA. Impact of development of the gastrointestinal tract on infant feeding. *The Journal of Pediatrics*. 1983;102(1):1-9.
58. Lederman SA., Paxton A, Heymsfield SB., Wang J., Thornton J., Pierson R. Body Fat and Water Changes During Pregnancy in Women With Different Body Weight and Weight Gain. *Obstetrics and Gynecology*. 1997; 90(4):483–8.

59. Ley SH., O'Connor DL., Retnakaran R., Hamilton JK., Sermer M., Zinman B., Hanley AJ. Impact of maternal metabolic abnormalities in pregnancy on human milk and subsequent infant metabolic development: Methodology and design. *BMC Public Health*. 2010;10(1):1-10.
60. Ley SH., Hanley AJ., Stone D., O'Connor DL. Effects of pasteurization on adiponectin and insulin concentrations in donor human milk. *Pediatric Research*. 2011;70(3):278–81.
61. Ley SH., Hanley AJ., Sermer M., Zinman B., O'Connor DL. Associations of prenatal metabolic abnormalities with insulin and adiponectin concentrations in human milk. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2012;95(4):867–74.
62. Lohman TG. Advances in Body Composition Assessment. *Pediatric Exercise Science*. 1992; 5(3):200–201.
63. Lovejoy JC. The Influence of Sex Hormones on Obesity across the Female Life Span. *Journal Women's Health*. 1998;7(10):1247–1256.
64. Lucas A. Long-Term Programming Effects of Early Nutrition - Implications for the Preterm Infant. *Journal of Perinatology*, 2005; 25: 2–6.
65. Mäkelä J, Linderborg K, Niinikoski H, Yang B, Lagström H. Breast milk fatty acid composition differs between overweight and normal weight women: The STEPS Study. *European Journal of Nutrition*. 2013;52(2):727–735.
66. Matthews DR., Hosker JP., Rudenski AS., Naylor BA., Treacher DF., Turner RC. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28:412–9.
67. Mendoza K., Márquez R., Donado A., Echenique O., Mendoza DL., Pérez M., Macías V. Fundamentos biomoleculares de la diabetes mellitus. *Revista de la Facultad de Ciencias de Salud*. 2005; 2:135–142.
68. Miao M, Dai M, Zhang Y, Sun F, Guo X, Sun G. Influence of maternal overweight, obesity and gestational weight gain on the perinatal outcomes in women with gestational diabetes mellitus. *Scientific Reports*. 2017;7:1–8.
69. Mobasher A, Barrett-Jolley R. Aquaporin water channels in the mammary gland: From physiology to pathophysiology and neoplasia. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2014;19(1):91–102

70. Nelson SM., Matthews P., Poston L. Maternal metabolism and obesity: modifiable determinants of pregnancy outcome. *Human Reproduction update*. 2010;16(3):255–275.
71. Neville MC., Morton J., Umemura S. Lactogenesis: The transition from pregnancy to lactation. *Pediatric Clinics North America*. 2001; 48(1):35–52.
72. Neville MC., McFadden TB., Forsyth I. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2002;7(1):49–66.
73. Neville MC., Webb P., Ramanathan P., Mannino MP., Pecorini C., Monks J., Anderson SM., McLean P. The insulin receptor plays an important role in secretory differentiation in the mammary gland. *AJP: Endocrinology and Metabolism*. 2013; 305(9):1103–1114.
74. Nommsen-Rivers LA., Chantry CJ., Pearson JM., Cohen RJ., Dewey KG. Delayed onset of lactogenesis among first-time mothers is related to maternal obesity and factors associated with ineffective breastfeeding. *American Society for Nutrition*. 2010;92(3):574–584.
75. Nommsen-Rivers LA., Dolan LM., Huang B. Timing of Stage II Lactogenesis Is Predicted by Antenatal Metabolic Health in a Cohort of Primiparas. *Breastfeeding Medicine*. 2012; 7(1):43–9.
76. Nommsen-Rivers LA. Does Insulin Explain the Relation between Maternal Obesity and Poor Lactation Outcomes? An Overview of the Literature. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. 2016;7(2):407–14.
77. Olivares JA., Arellano A. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*. 2008;27(2):9–18.
78. Osorio JH. Metabolismo de los lípidos durante el embarazo. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*. 2000;113–117.
79. Owa JA, Adejuyigbe O. (1997). Fat Mass, Fat Mass Percentage, Body Mass Index, and Mid-upper Arm Circumference in a Healthy Population of Nigerian Children. *Journal of Tropical Pediatrics*. 1997;43:13-19.
80. Pacheco LD., Costantine MM., Hankins DV. Physiologic Changes During Pregnancy. *Clinical Pharmacology During Pregnancy*. 2013; 5-16.

81. Pelkman CL, Chow M, Heinbach RA, Rolls BJ. Short-term effects of a progestational contraceptive drug on food intake, resting energy expenditure, and body weight in young women. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2001;73(1):19–26.
82. Peltz G., Aguirre MT., Sanderson M., Fadden M. The Role of Fat Mass Index in Determining Obesity. *American Journal of Human Biology*. 2010; 647:639–647.
83. Perichart O. Manual de lineamientos para la práctica de la nutrición clínica: Enfermedades crónico degenerativas. 1ª Ed. Editorial McGraw-Hill. 2013; 96 p.
84. Perry RJ., Samuel VT., Petersen KF., Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2014 ;510(7503):84–91.
85. Picciano MF. Nutrient composition of human milk. *Pediatric Clinics North America*. 2001; 48(1):53–67.
86. Plageman A., Harder T., Franke K., Kohlhoff R. Long-Term Impact of Neonatal Breast-Feeding on Body Weight and Glucose Tolerance in Children of diabetic mothers. *Diabetes care*. 2002, 25(1): 16-22.
87. Preusting I, Brumley J, Odibo L, Spatz DL., Louis JM. Obesity as a Predictor of Delayed Lactogenesis II. *Journal of Human Lactation*. 2017;33(4):684–91.
88. Rachoń D., Teede H. Ovarian function and obesity-Interrelationship, impact on women's reproductive lifespan and treatment options. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2010; 316(2):172–179.
89. Ramji N., Quinlan J., Murphy P., Crane JM. The Impact of Maternal Obesity on Breastfeeding. *Journal Obstetricians and Gynaecologist of Canada*. 2016; 38(8):703–11.
90. Ramonienė G., Maleckienė L., Nadišauskienė RJ., Bartusevičienė E., Railaitė DR., Mačiulevičienė R., Maleckas A. Maternal obesity and obstetric outcomes in a tertiary referral center. *Medicina*. 2017; 173: 1-5.
91. RKD E., Doe PA., Amoah S., Antoh EO. Lipid Profile and High Maternal Body Mass Index is Associated with Preeclampsia : A Case-Control Study of the Cape Coast Metropolis. *Annals of Medical and Health Sciences Research*. 2014;4(5):746–50.

92. Rasmussen KM., Kjolhede CL. Prepregnant Overweight and Obesity Diminish the Prolactin Response to Suckling in the First Week Postpartum. *Pediatrics*. 2004; 113(5):465–471.
93. Ray DB, Horst IA, Jansen RW, Mills NC, Kowal J. Normal mammary cells in long term culture. II. Prolactin, corticosterone, insulin and triiodothyronine effects on alpha-lactalbumin production. *Endocrinology* 108: 584-590. 1981.
94. Robinson AM, Williamson DH. Comparison of glucose metabolism in the lactating mammary gland of the rat in vivo and in vitro. Effects of starvation, prolactin or insulin deficiency. *Biochem J*. 164: 153-159. 1977.
95. Rutkowski JM, Stern JH, Scherer PE. The cell biology of fat expansion. *Journal of Cell Biology*. 2015;208(5):501–12.
96. Ruud J., Steculorum SM., Brüning JC. Neuronal control of peripheral insulin sensitivity and glucose metabolism. *Nature communications*. 2017; 8:1-12.
97. Saladin K. Anatomía-Fisiología: La Unidad entre forma y función. 6ª Edición. Editorial McGraw-Hill. 2013; pp 168.
98. Sandoval-Muñiz R., Vargas-Guerrero B., Flores-Alvarado L., Gurrola-Díaz C. Glucotransportadores (GLUT): Aspectos clínicos, moleculares y genéticos. *Gaceta Médica de México*. 2016; 152:547-57.
99. Savino F., Fissore MF., Liguori SA., Oggero R. Can hormones contained in mothers' milk account for the beneficial effect of breast-feeding on obesity in children?. *Clinical Endocrinology*. 2009 ;71(6):757–765.
100. Schindler TH., Cardenas J., Prior JO., Facta AD., Kreissl MC., Zhang XL., Sayre J., Dahlbom M., Licinio J., Schelbert. Relationship between increasing body weight, insulin resistance, inflammation, adipocytokine leptin, and coronary circulatory function. *Journal of the American College of Cardiology* 2006;47(6):1188–1195.
101. Schwartz MW., Prigeon RL., Kahn SE., Nicolson M., Moore J., Morawiecki A. Evidence that plasma leptin and insulin levels are associated with body adiposity via different mechanisms. *Diabetes Care* 1997; 20: 1476-81.
102. Schwartz MW. Central nervous system regulation of food intake. *Obesity*. 2006;14(2):1–8.

103. Shamir R, Shehadeh N. Insulin in human milk and the use of hormones in infant formulas. Nestle Nutrition Institute Workshop Series. 2013;77:57–64.
104. Shehadeh N., Khaesh-Goldberg E., Shamir R., Perlman R., Sujov P., Tamir A., Makhoul I. Insulin in human milk: postpartum changes and effect of gestational age. Archives of Disease in Childhood - Fetal Neonatal Edition.2003; 88(3):214–216.
105. Soma P., Nelson C., Tolppanen H., Mebazaa A. Physiological changes in pregnancy. Cardiovascular Journal of Africa. 2016; 27:35–40.
106. Sonagra AD., Biradar SM., Dattatreya K., Murthy J. Normal Pregnancy- A State of Insulin Resistance. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2014 ;1–3.
107. Spracklen CN., Smith CJ., Saftlas AF., Robinson JG., Ryckman KK. Maternal Hyperlipidemia and the Risk of Preeclampsia: a Meta-Analysis. American Journal of Epidemiology. 2014;(6).
108. Stuebe AM., Rich-Edwards JW. The reset hypothesis: Lactation and maternal metabolism. American Journal of Perinatology. 2009;26(1):81–8.
109. Vickers MH. Developmental programming and transgenerational transmission of obesity. Annals of Nutrition of Metabolism.2014; 64(1):26–34.
110. Whitmore TJ., Trengove NJ., Graham DF., Hartmann PE. Analysis of insulin in human breast milk in mothers with type 1 and type 2 diabetes mellitus. International Journal of Endocrinology.2012; 1 :1–9.
111. Widen EM, Gallagher D. Body composition changes in pregnancy: Measurement, predictors and outcomes. European Journal of Clinical Nutrition.2014;68(6):643–652.
112. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. Clinical Biochemist Reviews.2005; 26(2):19–39.
113. Yajnik C. Transmisión de obesidad-adiposidad y trastornos relacionados de la madre al bebé. Annals of Nutrition and Metabolism. 2014; 64:8–17.
114. Young BE., Patinkin Z., Palmer C., Houssaye B., Barbour LA., Hernandez T. Friedman JE. Krebs NF. 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 Nutrution. 2017;1–7.

115. Zavalza AB., Anaya R., Rincón AR., Mora JM. Adipokines and insulin resistance during pregnancy. *Diabetes Research Clinical Practice*. 2008 ;80(1):8–15.
116. Zhao FQ. Biology of glucose transport in the mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2014;19(1):3–17.
117. ZIMMET P, HODGE A, NICOLSON M, STATEN M, DE COURTEN M, MOORE J ET AL. Serum leptin concentration, obesity and insulin resistance in Western Samoans: cross sectional study. *BMJ* 1996, 313: 965-9.

Páginas web consultadas

Internet 1: World Health Organization (WHO) (2018). <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/es/>. Acceso: 10/02/2018.

Internet 2: World Health Organization (WHO) (2018) <http://www.who.int/topics/breastfeeding/es/> [Último acceso: 15/03/18].

Internet 3: INEGI http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/madre2017_Nal.pdf [Último acceso: 24/05/18].

Internet 4: UNICEF <http://www.unicef.cl/lactancia/material/index.html> . [Último acceso 20/06/18].

11. ANEXOS

Lactancia, obesidad y hormonas reguladoras de la ingesta de alimentos RODRIGUEZ-CRUZ M. Y COL.

Anexo 1



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

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 ocupara 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 2

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 3

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:

Pronóstico:

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

DÍA 3

RECORDATORIO DE 24 HORAS (UN DÍA 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 _____
