



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"**

TITULO DE LA TESIS:

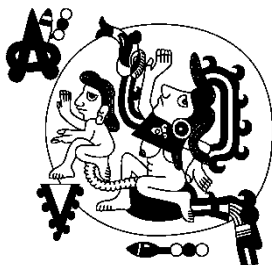
**ESTRÉS OXIDATIVO EN EL CALOSTRO DE MADRES CON SOBREPESO Y
OBESIDAD EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA "ISIDRO
ESPINOSA DE LOS REYES"**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:
NEONATOLOGÍA**

PRESENTA A:
DRA. MARISOL CASTILLO CARBAJAL

PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN
NEONATOLOGIA
DRA. IRMA ALEJANDRA CORONADO ZARCO

DIRECTORA DE TESIS Y ASESORA METODOLOGICA
DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO



INPer

Ciudad de México. 2019



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.



HOJA DE AUTORIZACION DE TESIS

AUTORIZACION DE TESIS

**ESTRÉS OXIDATIVO EN EL CALOSTRO DE MADRES CON SOBREPESO Y
OBESIDAD EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA "ISIDRO
ESPINOSA DE LOS REYES"**

Dra. Viridiana Gorbea Chávez

Directora de Educacion en ciencias de la salud

Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"

Dra. Irma Alejandra Coronado Zarco

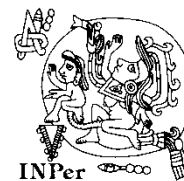
Profesor Titular Del Curso de Especialización en Neonatología

Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"

Dra. Silvia Romero Maldonado

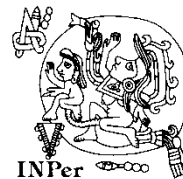
Director de tesis

Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



INDICE

I. RESUMEN.....	5
II. MARCO TEORICO.....	6
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN..	12
IV. OBJETIVO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN	13
V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
VI. HIPÓTESIS	14
VII. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	15
VIII. MATERIAL Y MÉTODO	16
IX. PROCEDIMIENTO.....	17
X. RESULTADOS	22
XI. DISCUSION	24
XII. CONCLUSION	26
XIII. BIBLIOGRAFÍA	27



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por que son mi gran apoyo. el impulso que me motiva a seguir, brindandome las palabras necesarias en todo momento. Mi amor y profunda admiración toda la vida.

A mis hermanas, de las que siempre he recibido apoyo incondicional en todo momento, las que siempre me han brindado consejos y amor. Gracias por caminar junto a mi.

A Fer, por ser mi complice, mi compañero en esta aventura, por ayudarme a conocerme dia con dia.

A mis maestros, gracias a su empeño, nos motivan a seguir aprendiendo por el bienestar de nuestros pacientes. Gracias por el conocimiento compartido.

A la vida, por permitirme estudiar y realizarme profesionalmente, haciendo lo que me hace feliz, por sus enseñanzas cotidianas, por los retos enfrentados y por las lecciones aprendidas

A Dios por ser mi gran acompañante.

I. RESUMEN

Introducción: No hay duda que la leche materna es el alimento especie-específico por su contenido en nutrientes y elementos antioxidantes, los que tienen un papel en la modulación del crecimiento y desarrollo del lactante. El contenido de antioxidantes en la leche materna depende de la dieta y estado de salud de la madre. La obesidad y el sobrepeso cursan con un aumento de estrés oxidativo el cual puede modificar la composición y el volumen de leche materna y por ende la salud y desarrollo del lactante.

Objetivo: Determinar el estrés oxidativo en el calostro de madres con sobre peso y obesidad, comparada con mujeres sin sobrepeso.

Hipótesis: El sobrepeso y obesidad generan un aumento de radicales libres en el calostro de la leche de madres con IMC > 25, comparado con mujeres con IMC normal (18-25).

Material y Métodos: Mediante un estudio longitudinal prospectivo de cohortes, se incluyeron 27 pacientes; Grupo 1: 15 con obesidad, Grupo 2: 5 con sobrepeso, Grupo 3: 7 con IMC normal, quienes previo consentimiento informado y firmado, nos donaron 5 mL de calostro durante las primeras 72 h, posparto, y se extrajeron 10 mL de sangre, para determinar los productos de oxidación: Daño a lípidos (proceso de lipoperoxidación) en sus tres fases: fase de iniciación (dienes conjugados), fase de propagación (hidroperóxidos) y fase de terminación (malondialdehído), daño a proteínas (carbonilación de proteínas).

Resultado: Se observó un incremento en los productos de oxidación obtenidos a partir de daño a lípidos, en fase de iniciación (dienes conjugados), fase de terminación (malondialdehído) y daño a proteínas (carbonilación de proteínas) en el calostro de las pacientes con sobrepeso y obesidad en comparación con las pacientes que presentaban un IMC en rango normal.

Conclusion: Con los resultados es posible proponer que la obesidad afecta la composición de la leche materna en la etapa de calostro.



II. MARCO TEORICO

Epidemiología

La Organización Mundial de la Salud y La UNICEF, promueve la implementación de políticas locales, regionales, y globales que favorecen la práctica de la lactancia materna. La alimentación del lactante durante los primeros seis meses de vida con otro alimento distinto a la leche materna lo priva de su apropiada nutrición y lo pone en riesgo de malnutrición e infecciones.¹⁴ Existe numerosa evidencia que indica que la lactancia materna es el medio más efectivo para promover la supervivencia del lactante. La alimentación con leche materna disminuye en los lactantes, la incidencia de infecciones agudas gastrointestinales y respiratorias, otitis, así como previene a futuro enfermedades metabólicas y se ha documentado que puede disminuir el riesgo de leucemias y linfomas.⁸ Se estima que la lactancia materna previene anualmente el 13% de las 10.6 millones de muertes en niños menores de 5 años alrededor de todo el mundo. Sin embargo, solamente el 73% de las madres les dan de lactar a sus hijos durante la primera hora de nacidos, y disminuye a un 49% hasta los 3 meses y a un 39.6% hasta los 6 meses de vida, de acuerdo a la OMS y en México, únicamente el 30.4%, lo que significa que solamente 30 de cada 100 madres lactan a sus hijos hasta los 6 meses de manera exclusiva.

Fases de la lactancia

Las secreciones que se producen en la glándula mamaria tienen una composición cambiante que se ajusta a las necesidades del lactante durante su crecimiento en los primeros meses de vida. El fluido que comienza a producirse alrededor del parto se denomina **calostro** y es producido en los primeros cinco días después del nacimiento. Después de este período, este fluido cambia en consistencia y composición, y se le denomina leche de transición que se produce por aproximadamente quince días, tiempo a partir del cual la glándula mamaria produce leche madura.²



Características de las fases de la lactancia

El calostro es un fluido espeso y amarillento que provee aproximadamente 67 Kcal/100mL, tiene 2g/100 mL de grasa, 4g/100 mL de lactosa y 2g/100 mL de proteína. El calostro presenta una disminución en las concentraciones de grasa y lactosa y altas concentraciones en aminoácidos libres, proteínas, e inmunoglobulinas (Ig), es rico en vitaminas liposolubles como A y E, y en carotenos y en algunos minerales como sodio y zinc. El betacaroteno le confiere el color amarillento y el sodio un sabor ligeramente salado. El calostro está ajustado a las necesidades específicas del recién nacido: 1) facilita la eliminación del meconio. 2) facilita la reproducción del lactobacilo bífido en el lumen intestinal del recién nacido. 3) los antioxidantes y las quinonas son necesarias para protegerlo del daño oxidativo y de la enfermedad hemorrágica. 4) las inmunoglobulinas cubren el revestimiento interior inmaduro del tracto digestivo, previniendo la adherencia de bacterias, virus, parásitos y otros patógenos. 5) el escaso volumen permite al niño organizar progresivamente su tríplico funcional, succión-deglución-respiración. 6) los factores de crecimiento estimulan la maduración de los sistemas propios del niño. 7) los riñones inmaduros del neonato no pueden manejar grandes volúmenes de líquido; tanto el volumen del calostro como su osmolaridad son adecuados a su madurez.²

La leche de transición es la leche que se produce entre el 4º y el 15º día postparto. Entre el 4º y el 6º día se produce un aumento brusco en la producción de leche, la que sigue aumentando hasta alcanzar un volumen notable, aproximadamente 600 a 800 mL/día. La leche de transición presenta un aumento en las concentraciones de lactosa, lípidos y vitaminas hidrosolubles, mientras que los niveles de inmunoglobulinas, proteínas y vitaminas liposolubles disminuyen. La leche de transición va variando día a día hasta alcanzar las características de la leche madura.¹⁹

El volumen promedio de leche madura producida por una mujer es de 700 a 900 mL/día durante los 6 primeros meses postparto¹⁹ y aproximadamente 500 mL/día en el segundo semestre y aporta aproximadamente 75 Kcal/100mL. La leche madura contiene un 88% de agua y su osmolaridad es semejante al plasma, lo



que permite al niño mantener un perfecto equilibrio electrolítico. La leche humana madura posee la concentración más baja de proteína (0,9 g/100 ml). El contenido proteico de la leche cambia con el tiempo: durante la lactancia temprana la concentración de proteínas está entre 14 - 16 g/L mientras que seis meses después del nacimiento su concentración es de 7 - 8 g/L. Sin embargo es la cantidad adecuada para el crecimiento óptimo del niño. La parte proteica de la leche madura está compuesta de 30% de caseína y 70% de proteínas del suero. La mayoría de las proteínas presentes en la leche se sintetizan en la glándula mamaria y otras como la albúmina provienen de la sangre materna la cual es considerada como un potente antioxidante, ya que se encuentra en contacto con un estrés oxidativo constante.¹⁸ Entre las proteínas del suero se encuentran, inmunoglobulinas, glicoproteínas, lactoferrina, lisozima, enzimas moduladores del crecimiento, hormonas y prostaglandinas. Ocho de los veinte aminoácidos presentes en la leche son esenciales y provienen del plasma de la madre. Durante su digestión, los péptidos formados presentan propiedades antibacterianas e inmunoestimuladoras, por lo que su participación en la protección contra infecciones es de vital importancia.¹⁶ La alfa-lactoalbúmina es una de las principales proteínas en la leche materna (20-25% de la proteína total) se ha descrito que tiene varias funciones fisiológicas en el periodo neonatal. En la glándula mamaria, participa en la síntesis de lactosa, se une a cationes divalentes (Ca, Zn) y puede facilitar la absorción de minerales esenciales, y proporciona un suministro balanceado de aminoácidos esenciales en los que se encuentra la cisteína, la cual favorece la síntesis de glutatión, el cual es utilizado como agente reductor por la glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y glutatión transferasa, enzimas clave para la defensa antioxidante.

En la leche madura, los carbohidratos (42%) y los lípidos (50%) proveen la mayoría de la energía. El principal carbohidrato de la leche es la lactosa, un disacárido compuesto de glucosa y galactosa. La leche humana tiene un alto contenido de lactosa, 7 g/dl (cerca de 200mM). La lactosa parece ser un nutriente específico para el primer año de vida, ya que la enzima lactasa que la metaboliza sólo se encuentra en los infantes mientras se alimentan con leche materna. La alta



concentración de lactosa en la leche humana facilita la absorción del calcio y el hierro y promueve la colonización intestinal con el *Lactobacillus bifidus*, flora microbiana fermentativa que al mantener un ambiente ácido en el intestino, inhibe el crecimiento de bacterias, hongos y parásitos.

Los lípidos de la leche humana son secretados en glóbulos microscópicos, de 1-10 μm . La membrana globular, que recubre los lípidos no polares, como los triacilgliceroles y el colesterol, está compuesta de fosfolípidos complejos. La composición de los ácidos grasos de la leche humana es relativamente estable, con un 42% de ácidos grasos saturados y 57% de poliinsaturados.¹⁶ Los ácidos grasos araquidónico (C 20:4) y docosahexaenoico (C 22:6) participan en la formación de la sustancia gris y en la mielinización de las fibras nerviosas. Se forman a partir de los ácidos linoleico (C 18:2) y linolénico (C 18:3) respectivamente. Estos últimos se obtienen de la dieta de la madre y tienen un papel importante en el desarrollo cerebral y del sistema inmune de los lactantes.³

Con lo que respecta a la concentración de vitaminas en la leche humana es la adecuada para el niño, pero puede variar según el estado nutricional de la madre. La absorción de vitaminas liposolubles en el lactante está relacionada con la variabilidad de la concentración de la grasa en la leche materna. La concentración de vitamina K es mayor en el calostro y en la leche de transición, cuando no se da el calostro, el riesgo de enfermedad hemorrágica es mayor, a menos que se provea al niño vitamina K inmediatamente después del nacimiento.¹¹ Después de 2 semanas, en los niños amamantados, se establece la provisión de vitamina K por la flora intestinal.⁴

Antioxidantes presentes en la leche materna

Las concentraciones de antioxidantes en la leche humana varían de acuerdo con el período de lactancia. Las mayores concentraciones de la coenzima Q10 y glutatión reducido se producen en el calostro, y van disminuyendo con la progresión de la lactancia¹⁹. La concentración de selenio, cobre y zinc, cofactores de enzimas antioxidantes, también presentan una disminución con el período de lactancia. Por el contrario, la actividad de las enzimas antioxidantes, como la



superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) aumentan durante la lactancia.¹³ En la literatura existen pocas publicaciones dedicadas al análisis del perfil antioxidante de la leche materna durante lactancia y los resultados son controversiales ya que Szlagatys-Sidorkiewicz et al., 2012, demuestran que la capacidad antioxidante total, se encuentra disminuida en la etapa de calostro comparada con la leche madura, mientras que Alberti-Fidanza y col. 2002 y Quiles et al. 2006, demostraron que la capacidad antioxidante de la leche materna se encuentra elevada en la fase de calostro comparada con la leche madura.²³ Estos últimos no tomaron en cuenta factores que pueden afectar las propiedades antioxidantes de la leche materna por ejemplo, el tabaquismo materno, la dieta e índice de masa corporal. Con lo que respecta a la vitamina A y vitamina E, se ha reportado que las concentraciones de ambas vitaminas fueron significativamente más altas en el calostro en comparación con la leche madura.¹⁶

Factores que afectan la capacidad antioxidante de la leche materna

La capacidad antioxidante en la leche materna depende de la administración de suplementos vitamínicos de la madre, la dieta, así como el estilo de vida.¹⁶ Las propiedades antioxidantes de la leche materna también se ven afectados por la resolución del parto; por ejemplo leche de madres pre-término presentan una actividad antioxidante más baja ¹⁹. Otro factor muy importante es la prevalencia de sobrepeso y obesidad durante el embarazo, esta enfermedad ha ido en aumento en los últimos años y esto podría potencialmente agravar el estado nutricional de la madre y afectar negativamente el desarrollo gestacional y la lactancia debido a que la obesidad y el sobrepeso cursan con un aumento importante de estrés oxidativo (EO), que se origina cuando se supera a la capacidad de depuración antioxidante, y la generación de especies reactivas de oxígeno/nitrógeno EROS/ERON no es regulada por los sistemas antioxidantes. El EO presente durante el embarazo, se debe al aumento de los requerimientos de oxígeno, que se inicia a partir del establecimiento de la circulación uteroplacentaria. En el último trimestre del embarazo los requerimientos energéticos fetales se incrementan, hay un cambio metabólico materno a un estado cetogénico en el que el feto utiliza los



cuerpos cetónicos para la lipogénesis y producción final de energía. Por lo tanto, los defectos en el proceso de oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria se relacionan con complicaciones maternas, placentales y fetales ⁶. Por lo que es de vital importancia que en la vida temprana, los recién nacidos reciban una nutrición adecuada. Se ha demostrado que los hábitos alimenticios modifican el perfil de ácidos grasos durante el periodo de lactancia, además de afectar el proceso de lactogénesis. La madre lactante con problemas de sobrepeso y obesidad son más propensas a experimentar un déficit de macronutrientes y micronutrientes debido a la alta demanda metabólica que conlleva la lactancia.



III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

La leche materna contiene una amplia gama de nutrientes, hormonas, factores de crecimiento, citocinas, componentes inmunológicos, carbohidratos, proteínas, ácidos grasos que juegan un papel importante en el crecimiento y desarrollo del lactante, además de contener numerosos antioxidantes. El sistema antioxidante proveniente de la leche materna representa un factor importante en la modulación del estrés oxidativo. El contenido de antioxidantes en la leche materna depende de factores tales como la dieta, la frecuencia de la lactancia materna, estado de salud, medicación, y del índice de masa corporal. La prevalencia de sobrepeso y obesidad durante el embarazo ha ido en aumento en los últimos años y esto podría potencialmente agravar el estado nutricional de la madre y afectar negativamente el desarrollo gestacional y la lactancia debido a que la obesidad y el sobrepeso cursan con un aumento importante de estrés oxidativo. Los estudios acerca del daño oxidativo presente en la leche materna no son concluyentes, sin embargo se ha establecido que la lactancia materna tiene un efecto benéfico sobre el equilibrio antioxidante-prooxidante.¹² Siempre y cuando el consumo dietético diario de la madre sea el adecuado, de lo contrario la composición y el volumen de leche materna se ven afectados negativamente y por ende la salud y desarrollo del lactante que puede desencadenar en enfermedades como diarrea, influenza, neumonía, meningitis, enterocolitis necrotizante, infecciones del tracto urinario y respiratorio, entre otras. Bajo esta problemática nos planteamos responder la siguiente pregunta de Investigación.

¿La leche materna de las mujeres con sobrepeso y obesidad tienen radicales de oxígeno elevados, comparada con la leche de las mujeres sanas?

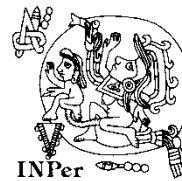


IV. OBJETIVO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN

Evaluar mediante un estudio longitudinal la capacidad antioxidante de la leche materna en mujeres mexicanas con obesidad y sobrepeso durante la fase de lactancia (calostro), comparadas con un grupo control de mujeres con IMC pregestacional ($18.5-24.99\text{Kg/m}^2$) considerado normal.

V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar en leche materna biomarcadores de daño oxidativo
 - ✓ Daño a lípidos (proceso de lipoperoxidación) en sus tres fases: fase de iniciación (Dienos conjugados), fase de propagación (Hidroperóxidos) y fase de terminación (Malondialdehído).
 - ✓ Daño a proteínas (carbonilación de proteínas)
2. Asociar la obesidad y el sobrepeso con la capacidad antioxidante de la leche materna.
3. Evaluar las diferencias en las variables del estudio, en los grupos de sobrepeso, obesidad y peso normal.



VI. HIPÓTESIS

Los radicales libres presentes en la leche materna de mujeres con sobrepeso y obesidad, presentaran un aumento en comparación con los radicales libres de la leche materna de mujeres con IMC normal.



VII. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Con las mediciones propuestas de daño oxidativo (daño a lípidos: Lipohidroperóxidos, malondialdehído. Daño a proteínas: carbonilación) se tiene la posibilidad de evaluar de manera confiable y directa la asociación que tiene la obesidad y el sobrepeso sobre la calidad de la leche materna en su fase de calostro.

Este proyecto nos ayudará en el futuro a valorar el agregar algún antioxidante, en la leche de mujeres con sobrepeso y obesidad, de manera preventiva para asegurar la salud y supervivencia del recién nacido.



VIII. MATERIAL Y MÉTODO

Diseño o procedimiento

TIPO DE INVESTIGACION. Observacional

TIPOS DE DISEÑOS. Cohortes comparativas

CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO.

- a) Por la participación del investigador Descriptivo
- b) Por temporalidad del estudio Longitudinal
- b) Por la lectura de los datos Prolectivo
- d) Por el análisis de datos Análítico



IX. PROCEDIMIENTO

1. Se entregó consentimiento informado a todas las pacientes.

2. Recolección de la muestra de sangre

La recolección de la muestra de sangre será realizada por el personal del INPer capacitado y asignado para este procedimiento. Serán requeridas 10 mL de sangre, únicamente al inicio del estudio cuando las pacientes aún se encuentran hospitalizadas.

3. Recolección de la leche materna

La leche se recolecta con técnica manual de extracción. Las muestras de leche en su fase de calostro serán recolectadas en los primeros 3 días en el INPer, Las muestras una vez recolectadas serán almacenadas en congelación (-80°C) hasta su análisis.

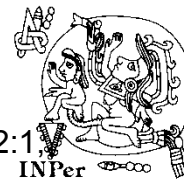
4. Preparación de las muestras de leche

Previo al análisis de los indicadores de estrés oxidativo, cada muestra de leche será homogenizada (200µL). Y serán centrifugadas a $905.6 \times g$ por 10 minutos a 4°C en una centrífuga Sorvall®, el sobrenadante será recuperado y se le agregará fenil-metil-sulfonil fluoruro (PMSF) a una concentración 1mM, como inhibidor de proteasas.

5. Evaluación del daño oxidativo

Determinación de Dienes conjugados

Los dienos conjugados son el primer producto de lipoperoxidación, provocados por el ataque del radical libre hidroxilo hacia los grupos metilo, de un ácido graso poliinsaturado, en el cual se lleva a cabo un rearrreglo secuencial de dobles enlaces. Los dienos conjugados son determinados utilizando 20µL del suero de



leche, los cuales se someten a una extracción cloroformo-metanol 2:1. Posteriormente se centrifuga a 4000rpm durante 10 minutos a 20°C, se recolectan 500 μL de la fase orgánica, con cuidado de no tocar la capa amarilla, posteriormente se evapora a sequedad, finalmente la pastilla se resuspende en ciclohexano concentrado, protegiéndolos de la luz. Se determina la absorbancia en un Perkin Elmer UV/VID modelo B050-9914 a 234nm utilizando para los cálculos un coeficiente de extinción molar de $\epsilon = 2.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Determinación de Hidroperóxidos

Los hidroperóxidos lipídicos son moléculas relativamente estables, pero algunos compuestos de hierro reducido catalizan su descomposición para dar origen a radicales alcóxilo; también es posible la reacción de los radicales peróxilo con los compuestos de hierro. Los radicales alcóxilo y peróxilo estimulan la cadena de reacciones de la peroxidación lipídica, al extraer átomos de hidrógeno de otros ácidos grasos no saturados.

Para la cuantificación de lipohidroperóxidos en leche materna se utiliza un método iodométrico el cual consiste en adicionar a 10 μL de suero de leche, un reactivo comercial de Merck, cat. nom 14106I CHOLPAD (es utilizado para medir esteroides de colesterol) y yoduro de potasio 1M. Esta mezcla se incuba 30 minutos a temperatura ambiente protegiéndola de la luz. La concentración de lipohidroperóxidos se determina espectrofotométricamente en un Perkin Elmer UV/VID modelo B050-9914 a 360nm. Se utiliza terbutil hidroperóxido como estándar. (El Saadani et al., 1989).

Determinación del Malondialdehído

El MDA es uno de los productos finales de la lipoperoxidación. Para cuantificar el MDA, se toman 30 μL de suero de leche a los cuales se les adiciona el MPI (1-METHYL-2-PHENYLINDOLE) [15Mm], HCl al 37%. La reacción se incuba 40' a 45°C. Transcurrido el tiempo de incubación son centrifugadas a 10,000 rpm durante 5 minutos. Se determina la absorbancia en un Perkin Elmer UV/VID



modelo B050-9914 a 584 nm, se utiliza el Tetraetoxipropano (TEP) como solución estándar.

Determinación de la carbonilación de proteínas

Uno de los biomarcadores más utilizado de daño a proteína es la cuantificación de grupos carbonilos ^(Dalle-Donne *et al*, 2003). Se mezclan 20 μ l de suero de leche con 1ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) 10 mM en HCl 2.5 M.

Las muestras son incubadas a temperatura ambiente evitando la incidencia de la luz y precipitadas con ácido tricloroacético (TCA) al 20%. Se centrifugan por 10 minutos a 3500 rpm para recolectar la proteína precipitada. La pastilla se lava nuevamente con 1ml de TCA al 10%. Finalmente el precipitado es lavado con 3ml de una mezcla de etanol-acetato de etilo (1:1 v/v), para eliminar la DNPH excedente. Se centrifuga nuevamente y el precipitado final se disuelve en 1ml de clorhidrato de guanidina 6M en fosfato de potasio 20 mM, e incubados por 10 minutos a 37°C. Finalmente se analiza espectrofotométricamente a una longitud de onda de 370 nm ^(Dalle-Donne, 2003).

El coeficiente de extinción molar de la dinitrofenilhidrazina es de $\epsilon = 22,000/M^{-1} \text{ cm}^{-1} = 22,000/10^6 \text{ nmol/ml}$, el cual es utilizado para calcular la concentración de carbonilos, expresados en nmol de dinitrofenilhidrazonas/mg de proteína cuantificadas por el método de Lowry.

UNIVERSO O POBLACIÓN: El grupo de estudio estará conformado por mujeres lactantes sin patología agregada del Instituto Nacional de Perinatología (INPer). Estas pacientes serán estratificadas en tres grupos de acuerdo a su índice de masa corporal pregestacional en: obesidad (30.0-34.9 Kg/m²), sobrepeso (25-29.9 Kg/m²) y peso normal (18.5-24.99 Kg/m²).

CRITERIOS DE SELECCIÓN PARA LOS GRUPOS DE ESTUDIO

GRUPO CONTROL

- Criterios de inclusión:
 - Que las mujeres embarazadas presenten IMC pregestacional de 18.5-24.9kgm²
 - Que sus bebés no presenten ninguna complicación posparto
- Criterios de exclusión:
 - Las pacientes que tengan historial de tabaquismo activo y pasivo durante el embarazo.
 - Preclámpticas
 - Enfermedades inmunológicas
- Criterios de eliminación:
 - Pacientes que decidan retirarse
 - Muestra insuficiente

GRUPO DE SOBREPESO Y OBESIDAD

- Criterios de inclusión:
 - Que las mujeres embarazadas presenten IMC pregestacional de 25-29.9kgm² y de 30-34.9kgm² para el grupo de sobrepeso y obesidad respectivamente.
 - Que sus bebés no presenten ninguna complicación posparto
- Criterios de exclusión:
 - Las pacientes que tengan historial de tabaquismo activo y pasivo durante el embarazo.
 - Preclámpticas
 - Enfermedades inmunológicas
- Criterios de eliminación:
 - Pacientes que decidan retirarse
 - Muestra insuficiente



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva (porcentajes) y medidas de tendencia central (promedio).

X. RESULTADOS

Se incluyeron 27 pacientes que ingresaron al servicio de alojamiento conjunto del Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” en el periodo comprendido de junio del 2017 a septiembre del 2018.

De las cuales se dividieron en 3 grupos: Grupo 1 con 15 pacientes con obesidad, Grupo 2 con 5 pacientes con sobrepeso, Grupo 3 con 7 pacientes con IMC normal.

El promedio de edad en las pacientes del Grupo 3 fue de 21.7 años, del Grupo 2 fue de 39.8 años y del Grupo 1 fue de 31.2 años. Siendo la edad mínima del total de pacientes; 15 años y la máxima de 42 años. Del total de pacientes con IMC normal, el motivo de atención del 71.4% es por ser pacientes adolescentes, con un rango de edad entre 15 años y 34 años. De las pacientes con sobrepeso el motivo de atención fue edad materna de riesgo en el 100%. De estas, el 20% asociado a FIVTE y 20% a hijo previo con PCI. La edad mínima en las pacientes con sobrepeso fue de 39 años y la máxima de 42 años de edad. En cuanto a las pacientes con obesidad, el motivo de atención del 66.6% fue obesidad, del 20% fue asociada a problemas uterinos y del 13.4% fue por antecedente de asma. La edad gestacional promedio en las pacientes con IMC normal fue de 38.4sdg y en pacientes con IMC mayor a 25; fue de 39 sdg. (TABLA 1)

En cuanto a daño a lipidos en su fase de iniciación, se observó que las pacientes con sobrepeso, presentan un promedio 10 veces mayor de dienos conjugados en calostro, respecto a los pacientes con IMC normal, y las pacientes con obesidad, un promedio 5 veces mayor. (GRAFICA 1). Sin embargo en plasma se observa que el grupo con IMC normal, tiene un promedio de dienos conjugados 87% mayor respecto al grupo con sobrepeso y 70% mayor respecto al grupo de obesidad. (GRAFICA 2)



En cuanto a daño a lípidos en su fase de propagación, se observó que las pacientes con sobrepeso, presentan un promedio 10 veces mayor de dienos conjugados en calostro, respecto a los pacientes con IMC normal, y las pacientes con obesidad, un promedio 5 veces mayor. (GRAFICA 3). Sin embargo en plasma se observa que el grupo con IMC normal, tiene un promedio de dienos conjugados 87% mayor respecto al grupo con sobrepeso y 70% mayor respecto al grupo de obesidad. (GRAFICA 4)

Los resultados de daños a lípidos en su fase de terminación; Malondialdehído en calostro, nos reporta un incremento 7.4 veces mayor en el grupo de obesidad y 2.2 veces en grupo de sobrepeso en comparación al grupo con IMC normal. (GRAFICA 5). De igual forma se observa incremento significativo en el malondialdehído obtenido en plasma en el grupo con obesidad y sobrepeso, respecto al grupo con IMC normal. Con un incremento 10.4 veces mayor en grupo de obesidad y 2.8 veces en el grupo de sobrepeso. (GRAFICA 6).

Respecto a daño a proteínas (carbonilación de proteínas), se observó en calostro y plasma incremento en grupo de sobrepeso y obesidad. En calostro presento un incremento 2.2 veces mayor de los valores de sobrepeso, respecto a los valores de IMC normal. Y un aumento 2 veces en el grupo de obesidad. (GRAFICA 7). De las proteínas obtenidas en plasma, el grupo de obesidad es 8 veces mayor respecto al grupo de IMC normal y 2.7 veces mayor al grupo con sobrepeso. (GRAFICA 8)

XI. DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos observar un incremento en los productos de oxidación obtenidos a partir de daño a lípidos, en fase de iniciación (dienos conjugados), fase de terminación (malondialdehído) y daño a proteínas (carbonilación de proteínas) en el calostro de las pacientes con sobrepeso y obesidad en comparación con las pacientes que presentaban un IMC en rango normal.

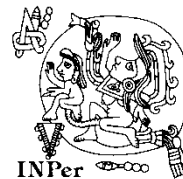
En la literatura existen pocas publicaciones dedicadas al análisis del perfil antioxidante de la leche materna durante lactancia. Szlagatys-Sidorkiewicz et al., 2012, realizó un estudio en donde evaluó los cambios en la capacidad antioxidante total y la actividad de captación de radicales libres en la leche materna durante los primeros seis meses de lactancia y también su relación con el plasma materno. Demostró que el calostro en comparación con las leches en transición y maduras tienen una mayor actividad antioxidante total que disminuye durante el curso de la lactancia. De igual forma, demostro que los niveles totales de antioxidantes tenían una tendencia a disminuir en calostro después de seis meses de estudio. En la prueba de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) para la actividad de eliminación de radicales, en calostro se observo que eran más potentes para reducir el DPPH radical estable en comparación con las leches de transición y maduras. Estos datos y los resultados obtenidos en este estudio, sugieren que el uso de calostro, con alto potencial antioxidante durante los primeros días de vida, es vital.

Sabemos que la prevalencia de sobrepeso y obesidad durante el embarazo, ha ido en aumento en los últimos años y que cursan con un aumento importante de estrés oxidativo (EO), que se origina cuando se supera a la capacidad de depuración antioxidante, y la generación de especies reactivas de oxígeno/nitrógeno EROS/ERON no es regulada por los sistemas antioxidantes. De



igual forma esto corrobora los resultados obtenidos con las muestras de calostro en las pacientes con un IMC mayor a 25.

En cuanto a los resultados obtenidos en plasma, se observó que en los marcadores de daño a lípidos en fase de iniciación y propagación los valores se encuentran elevados en pacientes con IMC normal, siendo posteriormente menores en la fase de terminación de daño a lípidos en comparación con las pacientes con sobrepeso y obesidad.



XII. CONCLUSION

Al comparar el calostro de mujeres con obesidad y sobrepeso con el grupo control, se presentó un incremento en los marcadores de oxidación a lípidos, así mismo se observa un incremento en los marcadores de oxidación a proteínas. indicando afectaciones en la composición de la leche materna.

Con los resultados es posible proponer que la obesidad afecta la composición de la leche materna en la etapa de calostro.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Alberti-Fidanza A, Burini G, Perriello G. Total antioxidant capacity of colostrum, and transitional and mature human milk. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002;11: 275–9.
2. Alonso-Díaz C, Utrera-Torres I, de Alba-Romero C, Flores-Antón B, López-Maestro M, Lora-Pablos D, Pallás-Alonso CR. Feeding practices with human milk in newborns less than 1.500 g or less than 32 weeks]. *An Pediatr (Barc)*. 2015 Oct 9. pii: S1695-4033(15)00357-4. doi: 10.1016/j.anpedi.2015.08.013. [Epub ahead of print] Spanish.
3. Belik J, González-Luis GE, Perez-Vizcaino F, Villamor E. Isoprostanes in fetal and neonatal disease. *Free Radic Biol Med* 2010;48:177–88
4. Campos JM, Paixão JA, Ferraz C. Fat-soluble vitamins in human lactation. *Int J Vitam Nutr Res* 2007;77:303–10.
5. Castellote C., Casillas R., Ramirez-Santana C., Pérez-Cano F., Castell M., Moretones G., López-Sabater C., Franch A. Premature Delivery Influences the Immunological Composition of Colostrum and Transitional and Mature Human Milk. *J Nutr*. 2011;141:1181-1187. Lönnerdal B. Nutricional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr*. 2003;77:1537S-43S.
6. Catarino C, Rebelo I, Belo L, Rocha S, Castro EB, Patricio B, Quintanilha A, Santos-Silva A. Relationship between maternal and cord blood hemostatic disturbances in preeclamptic pregnancies. *Thromb Res*. 2008;123(2):219-24. doi: 10.1016/j.thromres.2008.02.007. Epub 2008 Apr 1
7. Dalle-Done I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A and Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003. 329 (1):23-38.
8. Donovan SM. The Role of Lactoferrin in Gastrointestinal and Immune Development and Function: A Preclinical Perspective. *J Pediatr*. 2016 Jun;173 Suppl:S16-28. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.02.072



9. Frosali S, Di Simplicio P, Perrone S, Di Giuseppe D, Longini M, Tanganelli D, et al. Glutathione recycling and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of term and preterm newborns at birth. *Biol Neonate* 2004;85:188–94.
10. Giese SP, Simpson JA, Charlton TS, Duncan MW, Dean RT. Protein-bound 3,4-dihydroxyphenylalanine is a major reductant formed during hydroxyl radical damage to proteins. *Biochemistry*. 1993 May 11;32(18):4780-6
11. Hassiotou F, Geddes DT. Immune cell-mediated protection of the mammary gland and the infant during breastfeeding. *Adv Nutr*. 2015 May 15;6(3):267-75. doi: 10.3945/an.114.007377. Print 2015 May. Review
12. Koletzko B, Sauerwald U, Keicher U, Saule H, Wawatschek S, Böhles H, et al. Fatty acid profiles, antioxidant status, and growth of preterm infants fed diets without or with long chain polyunsaturated fatty acids. A randomized clinical trial. *Eur J Nutr* 2003;42:243–53
13. L'Abbe MR, Friel JK. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase content of human milk from mothers of premature and full-term infants during the first 3 months of lactation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:270–4
14. Lönnerdal B. Bioactive Proteins in Human Milk: Health, Nutrition, and Implications for Infant Formulas. *J Pediatr*. 2016 Jun;173 Suppl:S4-9. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.02.070
15. Macias C, Schweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab* 2001;45:82–5.
16. Macias C, Schweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab* 2001;45:82–5.
17. Mataix Verdú J. *Nutrición y Alimentación Humana*. Barcelona-España, Ed.Océano/Ergón, 2005



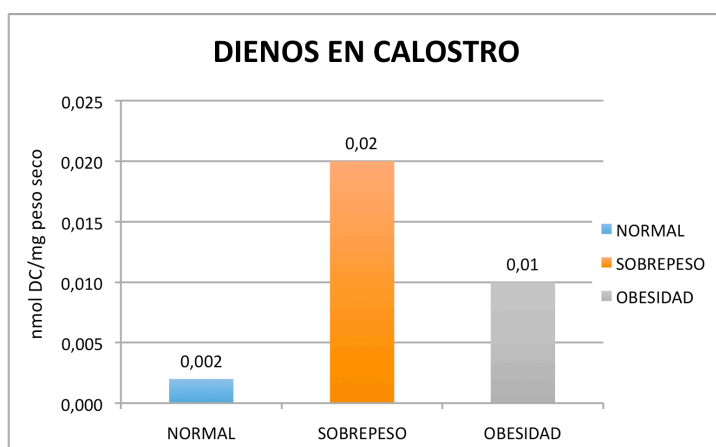
18. Medina-Navarro R, Durán-Reyes G, Díaz-Flores M, Vilar-Rojas C. Protein antioxidant response to the stress and the relationship between molecular structure and antioxidant function. *PLoS One*. 2010 Jan 29;5(1):e8971. doi: 10.1371/journal.pone.0008971.
19. Quiles JL, Ochoa JJ, Ramirez-Tortosa MC, Linde J, Bompadre S, Battino M, et al. Coenzyme Q concentration and total antioxidant capacity of human milk at different stages of lactation in mothers of preterm and full-term infants. *Free Radic Res* 2006;40:199–206.
20. Rice-Evans C, Miller NJ. Total Antioxidant Status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol* 1994;234:279–93.
21. Saadani E., Esterbauer H., Sayed M., Galter M, Nassar A. and Jurgens G. A spectrophotometric assay for lipid peroxides in serum lipoproteins using a commercially available reagent. *Journal of lipid research*, 1989. 30: 627-630.
22. Szlagatys-Sidorkiewicz A¹, Zagierski M, Jankowska A, Łuczak G, Macur K, Bączek T, Korzon M, Krzykowski G, Martysiak-Żurowska D, Kamińska B. Longitudinal study of vitamins A, E and lipid oxidative damage in human milk throughout lactation. *Early Hum Dev*. 2012 Jun;88(6):421-4. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2011.10.007. Epub 2011 Nov 13.
23. Zarban A, Taheri F, Chahkandi T, Sharifzadeh G, Khorashadizadeh M. Antioxidant and radical scavenging activity of human colostrum, transitional and mature milk. *J Clin Biochem Nutr* 2009;45:150–4.

XIV. ANEXOS

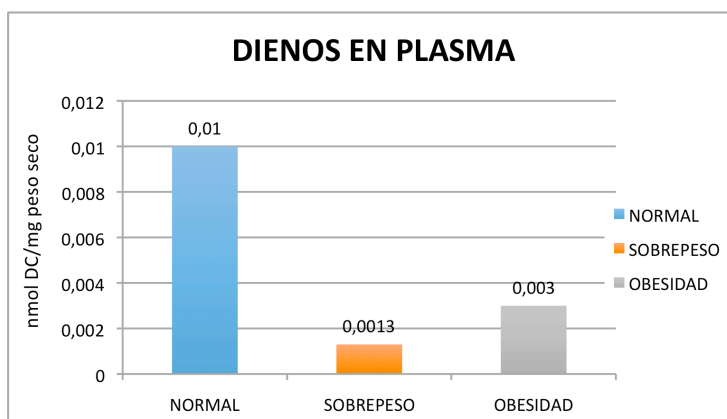
TABLA 1. RELACION ENTRE GRUPOS

PROMEDIO	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3
TALLA	1.61	1.56	1.59
EDAD MADRE	31.2	40	21.5
IMC	35.7	28.1	22.2
EDAD GESTACIONAL	39	39	38.4
PESO RN	3425.2	3035.8	2961.1

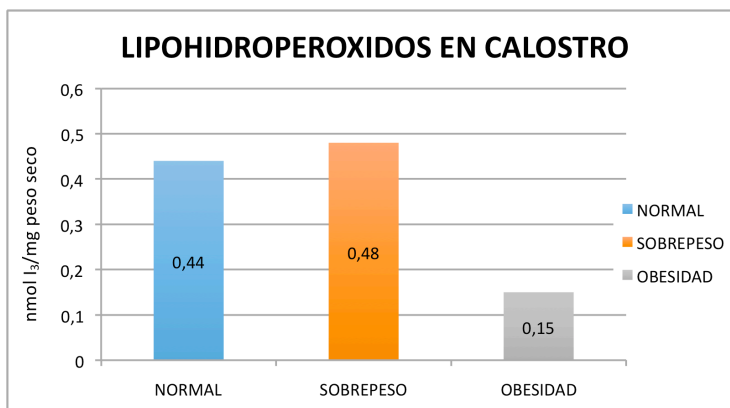
GRAFICA 1 – DIENOS EN CALOSTRO



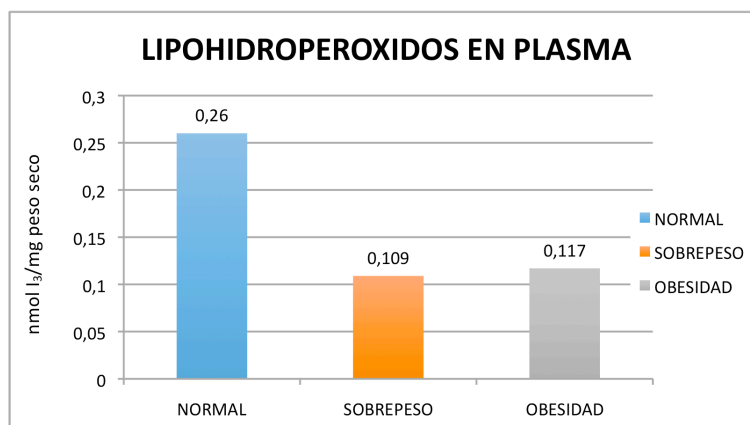
GRAFICA 2 – DIENOS EN PLASMA



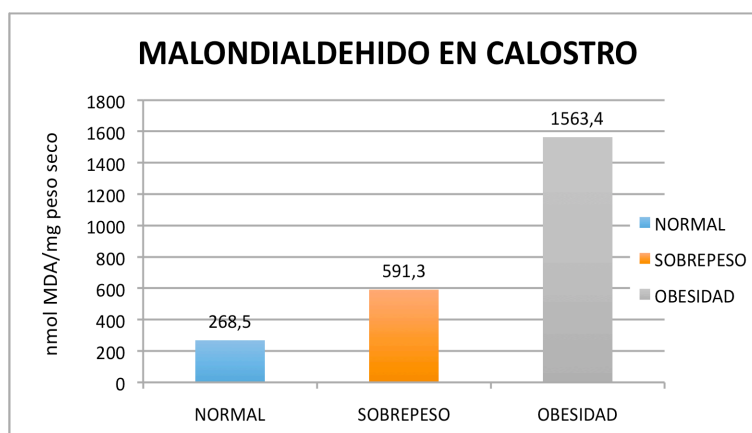
GRAFICA 3 – LIPOHIDROPEROXIDOS EN CALOSTRO



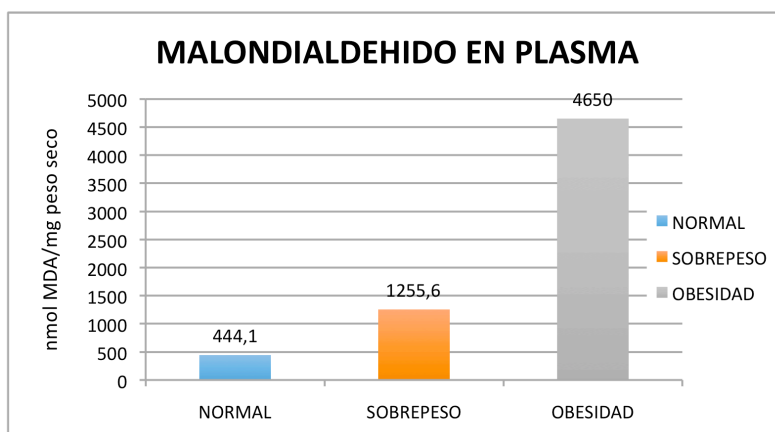
GRAFICA 4 – LIPOHIDROPEROXIDOS EN PLASMA



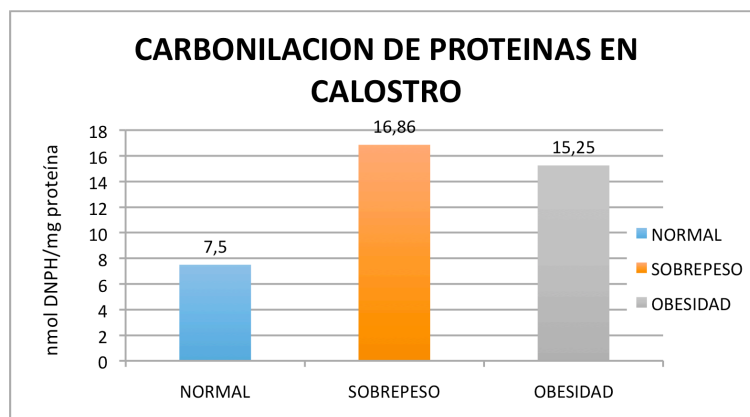
GRAFICA 5 – MALONDIALDEHIDO EN CALOSTRO



GRAFICA 6 – MALONDIALDEHIDO EN PLASMA



GRAFICA 7 – CARBONILACION DE PROTEINAS EN CALOSTRO



GRAFICA 8 – CARBONILACION DE PROTEINAS EN PLASMA

