



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

TESIS DE MAESTRÍA

Asociación de los niveles de las citocinas proinflamatorias: *IL-1 β* , *IL-6* Y *TNF- α* en el calostro humano con los componentes de la composición corporal materna

ALUMNO

E.N.C. María Murguía Vázquez

DIRECTOR DE TESIS

M. en C. Mauricio Pierdant Pérez

CODIRECTOR

D. en C. Mariana Salgado Bustamante

ASESOR

M. en C. María Victoria Lima Rogel

San Luis Potosí, S.L.P. Agosto 2022



Asociación de los niveles de las citocinas proinflamatorias: IL-1 β , IL-6 Y TNF- α en el calostro humano con los componentes de la composición corporal materna

by María Murguía Vázquez

is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

| | |
|---|--|
| DIRECTOR DE TESIS | |
| M. en C. Mauricio Pierdant Pérez | |
| CODIRECTOR DE TESIS | |
| D. en C. Mariana Salgado Bustamante | |
| ASESOR | |
| M. en C. María Victoria Lima Rogel | |
| SINODALES | |
| Sinodal Interno D. en C. Úrsula Fabiola Medina Moreno | |
| Sinodal Interno D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso | |
| Sinodal Externo M. en C. Maria Fernanda Bujaidar Jonguitud | |
| Sinodal Externo M. en C. AnaMaría Bravo Ramírez | |
| D. en C. María Esther Jiménez Cataño Jefa de Investigación y Posgrado Clínico Facultad de Medicina UASLP | D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso Coordinador de la Maestría en Ciencias en Investigación Clínica |

Índice

| | |
|---|-----------|
| ÍNDICE DE TABLAS | 5 |
| ÍNDICE DE IMÁGENES..... | 5 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 5 |
| ABREVIATURAS | 6 |
| GLOSARIO | 7 |
| 1. ANTECEDENTES | 8 |
| 1.1 SOBREPESO Y OBESIDAD | 8 |
| 1.1.1 <i>Obesidad y sobrepeso en edad reproductiva y en el embarazo</i> | 8 |
| 1.1.2 <i>Composición corporal durante el embarazo</i> | 9 |
| 1.1.3 <i>Obesidad y proceso inflamatorio</i> | 10 |
| 1.1.4 <i>Obesidad en el embarazo</i> | 10 |
| 1.2 PROGRAMACIÓN METABÓLICA | 11 |
| 1.2.1 <i>Nutrición en etapas tempranas de la vida</i> | 11 |
| 1.2.2 <i>Lactancia materna en México</i> | 12 |
| 1.2.3 <i>Leche materna</i> | 12 |
| 1.2.4 <i>Composición de la leche materna</i> | 12 |
| 1.2.5 <i>Componentes bioactivos y posibles mecanismos de absorción</i> | 14 |
| 1.2.6 <i>Citocinas en leche materna</i> | 15 |
| 1.2.7 <i>Estado nutricional y citocinas en leche materna</i> | 16 |
| 2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN..... | 18 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 19 |
| 4. HIPÓTESIS | 20 |
| 5. OBJETIVOS..... | 21 |
| 5.1 OBJETIVO GENERAL | 21 |
| 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 21 |
| 5.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS | 21 |
| 6. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 22 |
| 6.1 DISEÑO | 22 |
| 6.2 LUGAR DE REALIZACIÓN | 22 |
| 6.3 UNIVERSO DEL ESTUDIO | 22 |
| 6.4 SUJETOS PARTICIPANTES..... | 22 |
| A. <i>Criterios de inclusión</i> | 22 |
| B. <i>Criterios de no inclusión</i> | 22 |
| C. <i>Criterios de eliminación</i> | 23 |
| 7. MUESTRA..... | 24 |
| 7.1 TOMA DE MUESTRA..... | 24 |
| 7.2 MANEJO DE LA MUESTRA | 25 |

| | | |
|------------|---|--------------------------------------|
| 7.3 | PROCESAMIENTO | 25 |
| 8. | ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 26 |
| 8.1 | DEFINICIÓN VARIABLES | 26 |
| 8.2 | TIPO DE MUESTREO | 27 |
| 8.3 | CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA..... | 27 |
| 8.4 | ANÁLISIS DE LAS VARIABLES..... | 28 |
| 8.5 | CONCORDANCIA DE LAS MEDICIONES..... | 28 |
| 8.6 | CONTROL DE CALIDAD DE LAS MEDICIONES MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO | 29 |
| 9. | ASPECTOS ÉTICOS | 30 |
| 9.1 | CONFLICTOS DE INTERÉS..... | 30 |
| 10. | FACTIBILIDAD..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 10.1 | PLAN DE FACTIBILIDAD POR CONTINGENCIA COVID-19 | 31 |
| 11. | RECURSOS | 32 |
| 11.1 | RECURSOS HUMANOS..... | 32 |
| 11.2 | RECURSOS MATERIALES | 32 |
| 11.3 | RECURSOS FINANCIEROS..... | 32 |
| 12. | CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES | 33 |
| 13. | RESULTADOS | 34 |
| 14. | DISCUSIÓN | 41 |
| 15. | CONCLUSIONES | 47 |
| 16. | REFERENCIAS | 48 |
| 17. | ANEXOS..... | 53 |
| | ANEXO 1. CARTA ACEPTACIÓN COMITÉ DE LA MCIC | 53 |
| | ANEXO 2. CARTA DE ACEPTACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA Y DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL CENTRAL..... | 54 |
| | ANEXO 3. CARTA DE ACEPTACIÓN HOSPITAL DEL NIÑO Y LA MUJER | 57 |
| | ANEXO 4. BÚSQUEDA AVANZADA | 58 |
| | ANEXO 5. CONSENTIMIENTO INFORMADO | 65 |
| | ANEXO 6. AVISO DE PRIVACIDAD | 69 |
| | ANEXO 7. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL | 70 |
| | ANEXO 8. MANUAL DE OPERACIONES | 71 |
| | ANEXO 9. KIT CITOCINAS | 79 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Definición de las variables | 26 |
| Tabla 2. Coeficientes de correlación intraclase obtenidos | 29 |
| Tabla 3. Cronograma de actividades | 33 |
| Tabla 4. Características de las participantes | 35 |
| Tabla 5. Características de los recién nacidos | 37 |
| Tabla 6. Diferencias en la concentración de citocinas en el calostro | 38 |
| Tabla 7. Diferencias en la concentración de citocinas en el calostro | 39 |
| Tabla 8. Regresión lineal múltiple..... | 40 |
| Tabla 9. Revisión de artículos | 60 |
| Tabla 10. Evaluación antropométrica | 70 |
| Tabla 12. Presupuesto | 78 |

Índice de imágenes

| | |
|---|----|
| Imagen 1. Colocación electrodos | 72 |
| Imagen 2. Estimulación para la producción de LM | 73 |
| Imagen 3. Técnica de extracción de LM | 73 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Interpretación de patrones de la composición corporal a partir de los vectores de impedancia..... | 10 |
| Figura 2. Factores que pueden influir en la composición de leche materna..... | 14 |
| Figura 3. Análisis de vectores de bioimpedancia participantes..... | 34 |
| Figura 4. Diferencias estado nutricional entre grupos..... | 36 |
| Figura 5. Diferencias entre grupos de citocinas proinflamatorias..... | 38 |
| Figura 6. Búsqueda PUBMED..... | 58 |
| Figura 7. Búsqueda BVS..... | 59 |
| Figura 8. Gráfica elipses de tolerancia | 75 |
| Figura 9. Flujiograma activo | 75 |

Abreviaturas

| | |
|---------------|---|
| BIVA | Análisis de vector de impedancia bioeléctrica |
| ENSANUT | Encuesta nacional de salud y nutrición |
| IgA | Inmunoglobulina A |
| IgM | Inmunoglobulina M |
| IL-1 β | Interleucina 1 β |
| IL-10 | Interleucina 10 |
| IL-6 | Interleucina 6 |
| IMC | Índice de masa corporal |
| LM | Leche materna |
| MCP-1 | Proteína quimioatrayente de monocitos 1 |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| PCR | Proteína C reactiva |
| R | Resistencia |
| RN | Recién nacido |
| Th | Células T cooperadoras |
| TNF- α | Factor de necrosis tumoral α |
| Xc | Reactancia |

Glosario

- **Calostro:** Fluido fino, amarillo y seroso secretado por las glándulas mamarias durante el embarazo y los primeros días después del parto (hasta las 72 horas). El cual se compone de agua, grasa, hidratos de carbono, proteínas y compuestos biológicamente activos.
- **Citocinas:** Polipéptidos de bajo peso molecular secretadas por leucocitos y algunas otras células, actúan como mediadores intercelulares.
- **Estado nutricional:** es el estado fisiológico de un individuo, que resulta de la relación entre la ingesta y las necesidades de nutrientes y de la capacidad del cuerpo para digerir, absorber y utilizar estos nutrientes. Comprende información sobre el peso, la altura, el índice de masa corporal, la composición corporal y de índices bioquímicos.
- **Composición corporal:** Cantidades relativas de los componentes del cuerpo como: masa grasa, agua, masa muscular. En este caso es definida mediante análisis de vectores de bioimpedancia.

1. Antecedentes

1.1 Sobrepeso y obesidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el sobrepeso y la obesidad como “la acumulación excesiva o anormal de tejido graso que puede ser perjudicial para la salud ” (1). Sugiere utilizar el índice de masa corporal (IMC), que se obtiene al dividir el peso corporal (kg) entre la talla (m) al cuadrado, como un indicador simple para identificar el sobrepeso con un IMC ≥ 25 kg/m² y la obesidad con un IMC ≥ 30 kg/m² (2); sin embargo, este índice puede no reflejar cambios en la composición corporal (3) .

Tanto el sobrepeso y la obesidad representan un importante problema de salud pública a nivel mundial, en los que intervienen factores ambientales, individuales, socioeconómicos y genéticos (4). La OMS estimó que a nivel mundial en el 2016 el 39% de hombres y el 40% de mujeres presentaban obesidad (5).

En México, la cifra de personas con sobrepeso y obesidad ha ido incrementando desde 1980. De acuerdo con los resultados de la encuesta nacional de salud y nutrición (ENSANUT) del año 2018, más del 70% de la población las presentaban. En el grupo de mujeres mayores de 20 años se encontró una prevalencia del 36.6% para obesidad y del 40.2% para sobrepeso (6). Además, se proyecta para el año 2050 esta tasa aumente hasta un alarmante 91%, del cual corresponde el 34% a sobrepeso y el 57% a obesidad (7).

1.1.1 Obesidad y sobrepeso en edad reproductiva y en el embarazo

De acuerdo con la ENSANUT del 2018, la prevalencia de obesidad y sobrepeso en las mujeres de 20 a 29 años fue de 26.2% IC al 95% (23.2, 29.5) y 32.7% IC al 95% (29.4, 36.3), respectivamente. Mientras que en las mujeres entre 30 y 39 años fue del 39% con IC al 95% (35.7, 42.5) para obesidad y 40.5% IC al 95% (37, 44) para sobrepeso (8). La alta prevalencia de obesidad y sobrepeso en mujeres en edad fértil ha hecho que estos sean uno de los problemas más comunes durante el embarazo, incrementando la incidencia de complicaciones materno-fetales (9).

En nuestro país las encuestas nacionales no contemplan de forma particular a esta población, por lo que no se cuenta con los datos estadísticos de las embarazadas con sobrepeso y obesidad. Se estimó que en el 2014, utilizando datos públicos de la OMS y el Banco Mundial, el 65.2% IC al 95% (59.3, 70.7) de mujeres embarazadas en nuestro país presentaban sobrepeso u obesidad, del cual el 32.4% IC al 95% (26.4, 38.7) correspondía a obesidad (10). En una cohorte de mujeres

embarazadas realizada en el estado de Morelos se encontró un 19% con sobrepeso y un 29% con obesidad clasificando con su IMC pregestacional (11).

1.1.2 Composición corporal durante el embarazo

En el embarazo, hay cambios tanto fisiológicos como en la composición corporal para apoyar el crecimiento y el desarrollo fetal. Estos cambios se ven reflejados con un aumento de peso corporal en el que se incluyen: la ganancia de agua corporal, de masa grasa y el crecimiento del feto, del tejido placentario y del líquido amniótico (12).

Debido a los cambios ocurridos es difícil evaluar la composición corporal con indicadores comúnmente utilizados como: pliegues cutáneos y circunferencias, pletismografía por desplazamiento de aire, hidrodensitometría, ya que estos se basan en supuestos de la composición corporal. Mientras que el estándar de oro que es la absorciometría dual de rayos X, no se puede utilizar durante el embarazo (Ver anexo 4) (13).

Por esto, se ha propuesto el uso de análisis de vector de impedancia bioeléctrica (BIVA), ya que es un método no invasivo semicuantitativo de la masa de células y el agua corporal (14). Su ventaja sobre otros métodos es que para evaluarlos no dependen de ecuaciones predictivas o de suposiciones sobre la composición corporal que están modificadas en este período (15).

La bioimpedancia crea un circuito bioeléctrico, donde a través de dos electrodos emisores pasa una corriente alterna (a 50 kHz) y, simultáneamente, otros dos electrodos miden la resistencia (R), la oposición de un fluido a la corriente, y la reactancia (X_c), la fuerza que se opone al paso de la corriente a causa de un conductor. Estos componentes se estandarizan con la estatura y se trazan como vectores, donde la R, se correlaciona negativamente con los fluidos corporales, es el eje X y la X_c , se correlaciona positivamente con la masa celular corporal, representada en el eje Y (figura 1) (14,15). Por lo tanto, es un método válido y seguro en las mujeres embarazadas (16).

Los vectores gráficos se comparan con las elipses de tolerancia que representan los percentiles 50%, 75%, 95% para la población de referencia (17) y, pueden interpretarse incluso si las pacientes se encuentran en extremos de distribución de peso o agua corporal (14,15).

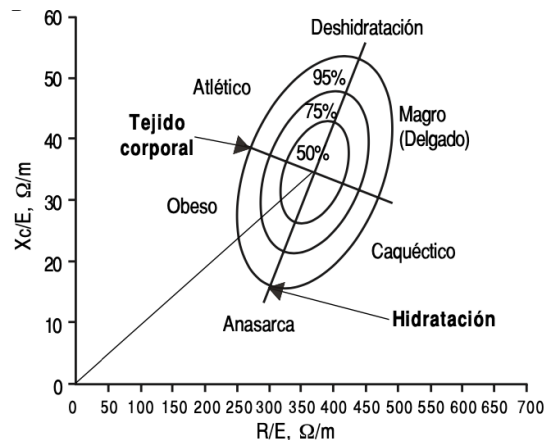


Figura 1. Interpretación de patrones de la composición corporal a partir de los vectores de impedancia (17)

1.1.3 Obesidad y proceso inflamatorio

El tejido graso es el tejido de almacenamiento energético, compuesto por diversos tipos de células como adipocitos, preadipocitos, macrófagos, linfocitos y células progenitoras. Se ha identificado como un órgano endocrino importante, ya que secreta diversas señales de proteínas como: adipocinas, citocinas y quimiocinas (18).

La obesidad se caracteriza como una enfermedad de inflamación crónica de bajo grado. Se ha asociado con niveles séricos elevados de marcadores de inflamación como: proteína C reactiva (PCR), una proteína de fase aguda; interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral α (TNF- α), las cuales son citocinas proinflamatorias (18,19).

El origen de estas sustancias parece ser el mismo tejido graso, ya que la expresión de diversos genes inflamatorios está regulada por el aumento de este. Una fuente adicional de estos factores son los macrófagos infiltrados en el tejido graso (18).

1.1.4 Obesidad en el embarazo

La obesidad materna implica que el feto se desarrolle en un entorno proinflamatorio, lo que puede tener consecuencias a corto y largo plazo. Durante el embarazo, es un factor de riesgo para complicaciones como: diabetes gestacional, preeclampsia y parto de un recién nacido (RN) macrosómico (un peso al nacer mayor a 4 kg). En los últimos años, se ha reconocido que la composición corporal materno puede tener influencia en la salud del bebé (20).

Los niños nacidos de madres con obesidad tienen de 3 a 5 veces más probabilidad de tener obesidad en la edad adulta. Los posibles mecanismos propuestos son: la genética y la programación metabólica durante el desarrollo fetal y la etapa de lactante (21).

1.2 Programación metabólica

Las primeras etapas del desarrollo del ser humano, incluyendo el periodo intrauterino y la lactancia (los primeros dos años de vida), son importantes para la salud en etapas posteriores (22). La teoría de la programación metabólica afirma que los cambios en el metabolismo ocurridos en este período, incrementan el riesgo de aparición de diversas enfermedades en etapas posteriores (23).

Durante el crecimiento intrauterino el feto se encuentra vulnerable a diferentes factores que dependen de los tejidos maternos. Por ejemplo: su estado de salud y nutricional, el ambiente en el que se encuentra, sus hábitos alimenticios y su nivel actividad física, pueden afectar permanentemente la salud del feto (24). Los factores intrauterinos reconocidos en la programación metabólica durante el desarrollo fetal son: los trastornos endocrinológicos de la mujer embarazada, la disponibilidad de micronutrientes, la presencia de toxinas y/o de agentes infecciosos (25).

Durante la lactancia, el lactante se encuentra expuesto a diferentes factores que influyen en la programación metabólica. Los factores postnatales asociados son: su aumento excesivo de peso y la composición de su dieta; así como factores maternos: la obesidad, el tabaquismo y la inactividad física (26).

Los cambios postnatales interactúan con los ocurridos durante el desarrollo fetal aumentando el riesgo de enfermedad. Por ejemplo, un peso bajo al nacimiento se ha asociado con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, hipertensión, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico en la etapa adulta (27).

1.2.1 Nutrición en etapas tempranas de la vida

La nutrición en etapas tempranas, considerada como la alimentación que se recibe durante la lactancia, ha sido identificada como uno de los factores para la programación metabólica. La OMS recomienda que durante una cuarta parte de este periodo (es decir, seis meses) la alimentación sea lactancia materna exclusiva y, de no ser posible con fórmula infantil (19,28).

Estudios observacionales y en animales han demostrado que la nutrición tiene efectos duraderos sobre el metabolismo, el apetito, el crecimiento, el desarrollo neurológico y el riesgo de padecer enfermedades crónicas en etapas posteriores (19).

Aunque aún no se han identificado los procesos mediante los cuales se regula el riesgo de enfermedad, probablemente estén asociados con cambios dados por nutrientes, hormonas y otras sustancias activas en la regulación de ingesta de alimentos y en la diferenciación metabólica (29,30).

1.2.2 Lactancia materna en México

La lactancia materna aporta beneficios en la salud física y emocional de la madre e hijo. De acuerdo con la OMS y la Academia Mexicana de Medicina, la leche materna (LM) es una de las formas más efectivas para garantizar la salud y la supervivencia infantil (28,31).

Según los datos de la ENSANUT el porcentaje de bebés, alimentados exclusivamente con LM durante sus primeros seis meses de vida, ha incrementado de un 14.4% en 2016 a un 28.6% en 2018. Así mismo, el número de lactantes (menores de 6 meses) alimentados predominantemente con LM incrementó de un 25% a un 40% (6,32).

1.2.3 Leche materna

La LM es un fluido biológico, complejo y dinámico, que constituye el alimento ideal para los RN. La OMS recomienda que todos los bebés sean alimentados con LM exclusivamente durante los primeros seis meses de vida, proporciona toda la energía y nutrientes, además de ofrecer protección inmunológica, que un lactante necesita durante los primeros seis meses de vida (31,33).

1.2.4 Composición de la leche materna

La LM se compone de elementos nutritivos como: lípidos, hidratos de carbono, oligosacáridos, proteínas, vitaminas y minerales; factores inmunológicos como: inmunoglobulina A e inmunoglobulina G; y otros componentes bioactivos como: hormonas, citocinas, enzimas, sales biliares, prebióticos, probióticos, factores de crecimiento, entre otras, que apoyan el desarrollo infantil (34). Su composición es dinámica y compleja, y está influenciada por factores fisiológicos, infantiles y maternos. Por lo que existen diferencias en la composición inter e intra maternas (35).

Algunas de las diferencias en la composición influenciadas por factores fisiológicos son:

1. Las variaciones durante el día, es decir, la hora del día en que se realiza la toma. Siendo las tomas del final del día más ricas en lípidos (36).
2. La leche madura cambia su composición según la etapa de la toma, ya que el contenido de lípidos incrementa gradualmente del inicio al final de la toma (34).
3. La etapa de la lactancia, en donde podemos distinguir 3 tipos de acuerdo con su composición: calostro, leche de transición y leche madura (21).
 - a) **Calostro:** es la leche producida las primeras horas posparto (hasta las 72 h), se caracteriza por tener una mayor concentración de proteína de suero y oligosacáridos, y un menor contenido de caseína, lactosa y lípidos comparando con la leche madura. Se singulariza por su alta concentración en compuestos bioactivos, incluyendo leucocitos, inmunoglobulinas y lactoferrina, por esto existe la hipótesis que tiene un papel inmunológico clave (36).
 - b) **Leche de transición:** es la leche que va reemplazando gradualmente al calostro, se empieza a producir entre los dos y los cinco días posparto. Se produce en mayor cantidad que el calostro (36).
 - c) **Leche madura:** se inicia a la segunda semana posparto, se produce en un volumen similar a la de transición y, tiene una menor concentración de algunos compuestos bioactivos e inmunológicos (36).

Los factores maternos que podrían influir en su composición son: la edad, la etnia, el estado nutricional y la dieta. En los últimos años, se ha buscado una asociación entre estos factores y la composición de la leche materna. Se han reportado diferencias asociadas al estado nutricional y la dieta en la composición de lípidos, y en algunos de los componentes bioactivos (21,35). Por ejemplo, se ha demostrado un aumento en la concentración de leptina e insulina en la LM de madres con obesidad en comparación con las de normopeso (22,37,38).

La composición también varía en respuesta a factores infantiles como: su peso al nacer, su estado nutricional y su género para coincidir con sus requerimientos de acuerdo con su edad y sus características (21). Se han reportado diferencias en la composición, como un mayor contenido de proteínas y lípidos en la LM de madres con un RN prematuro en comparación con la de un RN a término (39).



Figura 2. Factores que pueden influir en la composición de leche materna (35)

1.2.5 Componentes bioactivos y posibles mecanismos de absorción

Los componentes bioactivos de la LM son elementos con la capacidad de afectar procesos o sustratos biológicos. Juegan un papel protector proporcionando elementos que protegen contra enfermedades infecciosas y alergia, y ayudan a cerrar la brecha en el desarrollo del sistema inmunológico inmaduro del RN. Además, algunos están involucrados en la maduración del sistema inmune y gastrointestinal, y cumplen con funciones inmunomoduladoras (40).

Sus posibles mecanismos de absorción identificados son (21):

- Contenido de α 1-antitripsina en LM, un inhibidor de proteasa conocido. Este se encuentra en mayor concentración en el calostro en comparación con la leche madura (21).
- El RN tiene un pH intestinal alto que favorece la absorción de proteínas y otros compuestos de la LM (41).
- Enzimas pancreáticas inmaduras que promueven su
- Mediante difusión extracelular que es una vía no digestiva para la absorción de péptidos y componentes bioactivos (21).
- Algunos componentes pueden absorberse a través de exosomas o células vivas de la LM (21).

A través de estos mecanismos los compuestos biológicamente activos de la LM podrían ingresar a la circulación sanguínea del lactante y tener un impacto en su salud (21).

1.2.6 Citocinas en leche materna

Uno de los componentes bioactivos de la LM son las citocinas, un grupo de polipéptidos de bajo peso molecular, involucradas en la comunicación celular. Tienen función en la respuesta inflamatoria, como agentes pro o antiinflamatorios, pueden actuar como hormonas en los tejidos de forma autócrina y parácrina, o como inductores de la maduración (42).

La principal fuente son las células epiteliales de la glándula mamaria y en menor cantidad los leucocitos presentes en la LM. Las citocinas que se han encontrado en mayores concentraciones son: IL-1 β , TNF- α , IL-6, interleucina 10 (IL-10) e, interferón γ (IFN- γ); en menores concentraciones están presentes: interleucina 4 (IL-4), interleucina 12 (IL-12) e interleucina 13 (IL-13) (42) . Su concentración en la LM es inversamente proporcional a la madurez del bebé, teniendo el calostro mayor contenido (43).

Las citocinas presentes en la LM podrían afectar directamente la señalización celular de los enterocitos o bien, lograr cruzar la barrera intestinal y ejercer funciones inmunomoduladoras o de regulación en la proliferación e inflamación de otras células (42,44). Así las citocinas podrían alterar la señalización, en el desarrollo del sistema inmunitario y del tracto gastrointestinal, y/o afectar la utilización de nutrientes, por eso es importante conocer si sus niveles se ven alterados con por diferente composición corporal materna (45).

Las citocinas seleccionadas son la IL-6, el TNF- α y la IL-1 β , ya que se han asociado a un estado proinflamatorio causado por la obesidad, y además son de las citocinas que se han encontrado en mayores concentraciones en la LM (18,42).

La IL-6 es una citocina producida por: macrófagos, monocitos, células T cooperadoras (Th2) y células epiteliales mamarias. Participa en la inmunidad humoral (regulando la producción de interferón), la estimulación de inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina A (IgA) y la regulación en la producción de IL-1 y TNF- α (42). Podría tener un efecto inmunomodulador en la producción de IgA, el cual ha sido demostrado en células mononucleares aisladas de la LM (33).

El TNF- α es una citocina proinflamatoria secretada principalmente por macrófagos y adipocitos. En la LM es secretado por los macrófagos y las células endoteliales. Puede desencadenar la secreción de varios componentes, como la mucina, por el epitelio intestinal y de las vías respiratorias inferiores, ejerciendo su efecto en la función y el desarrollo del sistema inmunológico del lactante (34,42).

La IL-1 β , es una citocina que media la inflamación y la proliferación, diferenciación y apoptosis celular. Es producida por monocitos y macrófagos como una pro-proteína que se adhiere a la caspasa 1/ICE para formar la citocina madura (46). ctiva los monocitos y las células T cooperadoras (Th) para secretar TNF- α , produciendo citocinas, que a su vez activan los macrófagos y ayudan el desarrollo de la inmunidad celular (42).

1.2.7 Estado nutricional y citocinas en leche materna

El impacto del estado nutricional en el contenido de citocinas ha sido un tema de interés; sin embargo, sigue sin estar bien caracterizado. Whitaker et al. realizaron un estudio donde se midió la concentración de IL-6 al mes y tres meses de nacimiento, no se encontraron asociaciones significativas para el modelo en crudo o ajustado entre el IMC materno y la concentración de IL-6, pero si para PCR con el IMC; sin embargo se analizó de acuerdo a IMC pregestacional (33).

En otro estudio, Young et. al midieron IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α en LM transición a las 2 semanas y madura a los 4 meses de 56 mujeres. Utilizaron la clasificación de IMC a los 6 meses posparto, y analizaron en dos grupos normopeso y sobrepeso/obesidad y no se encontraron diferencias entre grupos (44). En el 2017, midieron la concentración de citocinas (IL-6, IL-8 y TNF-a) en LM las 2 semanas, 1, 2, 3 y 4 meses. No se relacionaron los niveles de citocinas con el IMC auto reportado y además, se analizan como un sólo grupo sobrepeso/obesidad (22).

Fujimori et al. midieron en calostro las citocinas (IL-6, IL-10 y TNF-a) en una muestra de 45 mujeres, encontraron que las madres obesas presentaban los niveles séricos más altos de IL-6 y TNF-a, mientras que en el calostro las diferencias no fueron estadísticamente significativa. Las debilidades son que se utiliza el IMC pregestacional, y no se menciona de donde se obtuvo. Además, no especifican las condiciones para la toma de muestra de leche, ni se excluyen pacientes con hipertensión arterial, que fumen, o con diabetes gestacional (30).

Aunque existen estudios que tienen como objetivo encontrar una asociación del IMC materno con el contenido de citocinas en LM (22,30,33,44,47), en los que se han estudiado diferentes citocinas, no se ha llegado a una conclusión respecto del estado nutricional materno con los niveles de citocinas, debido a fallas metodológicas en dichos estudios (Ver anexo 3).

La composición corporal materna podría ser uno de los determinantes de diferente contenido de citocinas proinflamatorias en el calostro, las cuales pueden ejercer funciones de señalización y de respuesta inflamatoria; pudiendo influir en el desarrollo del sistema inmunitario y del tracto gastrointestinal, y/o afectar la utilización de nutrientes (45), procesos genéticos, metabólicos y epigenéticos del bebé programándolos a posibles alteraciones en su salud a corto y largo plazo (38).

2. Pregunta de investigación

¿Cuál será la asociación entre los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) en el calostro humano y los componentes de la composición corporal materna?

3. Justificación

El calostro se caracteriza por un alto contenido de sustancias bioactivas en comparación con la leche madura, por lo que se cree tiene un papel inmunológico único. Las citocinas, son uno de los componentes bioactivos presentes en el calostro, pueden interaccionar con otras células y funcionar como señales nutricionales. Teniendo así la posibilidad de alterar la señalización, la diferenciación celular, el desarrollo del sistema inmunitario y del tracto gastrointestinal, y/o afectar la utilización de nutrientes.

Se conoce poco sobre la asociación entre la composición corporal materna y los niveles de citocinas en el calostro. Los estudios publicados sobre la asociación entre el contenido de citocinas en LM y el estado nutricional materno han tomado el IMC pregestacional como indicador de la composición corporal. Además, la mayoría se han realizado utilizando leche madura o de transición, y presentan distintas fallas en el diseño metodológico como: la falta de estandarización en la toma de muestra (hora, ayuno, técnica) y tamaño de la muestra inadecuada.

Es importante examinar el efecto de la composición corporal materna en el contenido de componentes bioactivos de la LM como las citocinas proinflamatorias para contar con evidencia científica acerca de la trascendencia de promover más el cuidado nutricional durante la etapa gestacional con un impacto en mejorar las condiciones de desarrollo del bebé.

4. Hipótesis

Los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, TNF- α) en el calostro humano tienen una asociación positiva con los componentes de la composición corporal materna.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

Determinar la asociación entre los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, TNF- α) cuantificadas por citometría en el calostro humano y los componentes de la composición corporal materna analizada por vectores de impedancia bioeléctrica (BIVA).

5.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el peso actual, la talla y el análisis de bioimpedancia de las mujeres participantes dentro las primeras 24 horas posparto.
2. Clasificar a las participantes según su cuadrante y percentil en el análisis de vectores de impedancia bioeléctrica (BIVA).
3. Cuantificar los niveles de citocinas (IL-1 β , IL-6, TNF- α) en la muestra de calostro humano de las mujeres mediante citometría de flujo.
4. Asociar los niveles de citocinas (IL-1 β , IL-6, TNF- α) presentes en calostro humano con la composición corporal materna.

5.3 Objetivos secundarios

1. Realizar un modelo de regresión multivariada para asociar los niveles de citocinas (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) con otras variables clínicas (edad, resistencia, reactancia, gesta y ángulo de fase).

6. Material y métodos

6.1 Diseño

Estudio transversal analítico.

6.2 Lugar de realización

- Servicio de ginecología del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"
- Servicio de ginecología del Hospital del Niño y la Mujer "Dr. Alberto López Hermosa"

6.3 Universo del estudio

Mujeres posparto.

6.4 Sujetos participantes

A. Criterios de inclusión

- Pacientes posparto que tengan entre 18 y 35 años.
- Pacientes que acepten participar y firmen el consentimiento informado.
- Pacientes hayan tenido un parto eutócico a término (≥ 37 y < 42 semanas de gestación).
- Pacientes con un recién nacido sano (Evaluación médica).

B. Criterios de no inclusión

- Pacientes con enfermedades crónicas previas: Enfermedad renal crónica, hipertensión arterial, enfermedades reumatológicas, oncológicas, autoinmunes, asma y diabetes mellitus.
- Paciente con embarazo múltiple.
- Pacientes con toxicomanías positivas consumo de alcohol durante el embarazo (> 1 bebida al día), consumo de drogas (≥ 1 vez al mes) y consumo de tabaco (≥ 1 cigarro al día).
- Pacientes con enfermedades asociadas al embarazo: diabetes gestacional, preeclampsia, enfermedades autoinmunes.

C. Criterios de eliminación

- Participantes que no cumplan con el protocolo COVID-19
- Participantes en las que no sea posible obtener muestra suficiente
- Participantes fuera del gráfico de la elipse de tolerancia del p75 en el cuadrante caquexia y delgadez utilizando BIVA.

7. Muestra

7.1 Toma de muestra

Condiciones para la toma de muestra: Muestra post-pandrial 30 a 90 min posteriores al desayuno, en el intervalo de dos tomas de leche, dentro de las primeras 24 horas posparto, horario entre las 9 y 11 de la mañana. Una vez aceptado y firmado el consentimiento informado. Se tomó la muestra de calostro de la siguiente forma:

Antes de empezar se brindaron instrucciones verbales sobre el procedimiento que se iba a realizar para la extracción de la muestra. Las muestras de leche se recolectaron en tubos de 50 mL (volumen de la muestra esperado 2-5 mL).

- a. Previo a la recolección se le pidió a la participante que limpiara el seno del centro a la periferia con una gasa con agua estéril para minimizar la entrada de bacterias de la piel en la muestra.
- b. Se le pidió a la participante que se colocara los guantes proporcionados y posteriormente, comenzara con los ejercicios de estimulación (ver imagen 2) con una duración de 5 a 10 minutos.
- c. Al momento de observar la salida de calostro, se le solicitó a la participante que empezara con la técnica de extracción y se abocara el tubo de recolección sobre la región areolar, extrayendo hasta que no se pudiera obtener más muestra.
- d. Se repitieron los pasos B y C en el otro seno, con el objetivo de que la muestra proviniera de ambos y se recolectaran al menos 2.5 mL.
- e. Se transportaron las muestras en una hielera con gel refrigerante (previamente congelado a -20°C), manteniendo cadena fría, hasta el laboratorio de biología molecular y epigenética de la Facultad de Medicina.
- f. Se dividió la muestra en alícuotas de 500 μl , agitándose durante el pipeteo para asegurar la uniformidad de la muestra, y se depositaron en tubos estériles de 1.5 mL.
- g. Las muestras se congelaron y se almacenaron a -80°C para su posterior análisis.

7.2 Manejo de la muestra

Las muestras de calostro fueron transportadas por la investigadora principal y el médico pasante de servicio social (MPSS), dentro de hielera con gel refrigerante para mantener cadena fría desde el hospital hasta el laboratorio de biología molecular y epigenética de la facultad de medicina de la UASLP.

7.3 Procesamiento

Para su análisis las muestras de LM se procesarán de la siguiente forma:

- a. Se descongelaron las muestras a temperatura ambiente.
- b. La grasa de la leche se separó de la fase acuosa por centrifugación a $3990 \times g$ durante 10 minutos a $4^{\circ}C$.
- c. Solo la fase acuosa de las muestras (leche desnatada) se recogió, agitándose durante el pipeteo para asegurar la uniformidad de la muestra.

Se colocaron 200 ul de la fase acuosa en tubos para citómetro de flujo y se agregó el marcaje con anticuerpos incubando 40 min al abrigo de la luz y se utilizó el lector de placas Luminex contabilizando al menos 100 mil eventos y utilizando el kit comercial Human Premixed Multi-Analyte (R&D Systems) que detecta las 3 citocinas simultáneamente. Las citocinas que se analizaron son: IL-1 β , IL-6, TNF- α .

Todos los ensayos se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las concentraciones de citocinas en el calostro se calcularon sobre la curva estándar obtenida.

8. Análisis estadístico

8.1 Definición variables

Tabla 1. Definición de las variables

| Nombre | Código | Definición | Variable | Valor |
|-------------------------|---------------|---|------------|--|
| Edad | Ed | Número de años que ha vivido la participante. | Continúa | 18 a 35 años |
| Composición corporal | Grupo | Evaluación semicuantitativa, a través de BIVA, de la masa de células utilizando el cuadrante del análisis en el vector impedancia bioeléctrica y las elipses de la población de referencia. | Categorica | 1. Normopeso (dentro de las elipses del p50-p75) 2. Sobrepeso (Entre la elipse p75 a p95, del lado izquierdo) 3. Obesidad (fuera de la elipse p95, lado izquierdo) |
| Gesta | Gesta | El número total de embarazos que ha tenido la participante, incluyendo abortos. | Conteo | 1 a 10 embarazos |
| Semanas de gestación | SDG | Semanas transcurridas desde el primer día de la última menstruación hasta la fecha del parto. | Continúa | 37-42 semanas |
| Índice de masa corporal | IMC | Razón de asociación entre el peso y la talla al cuadrado. | Continúa | 18.5-40 kg/m ² |
| Resistencia | R | Es la oposición de un fluido al corriente medido por bioimpedancia eléctrica ajustada a la talla. | Continúa | 200-500 ohms/m |
| Reactancia | Xc | Es la fuerza que se opone al paso de la corriente a causa de un conductor medido por bioimpedancia eléctrica ajustada a la talla. | Continúa | 30-60 ohms/m |
| Ángulo de fase | A | Es el valor tangente de la relación entre la reactancia y la resistencia. | Continúa | 3-9° |
| VARIABLES DE RESPUESTA | | | | |
| IL-1 β | IL-1 β | Concentración en calostro de IL-1 β cuantificada por citometría de flujo. | Continúa | 2.44 - 10,000 pg/mL |
| TNF- α | TNF- α | Concentración en calostro de TNF- α cuantificada por citometría de flujo | Continúa | 3.54 - 35,000 pg/mL |
| IL-6 | IL-6 | Concentración en calostro de IL-6 cuantificada por citometría de flujo | Continúa | 2.77 - 40,000 pg/mL |

8.2 Tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

8.3 Cálculo del tamaño de muestra

Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó la fórmula de poder para un análisis de ANOVA utilizando 3 grupos, un nivel de significancia de 0.05 y un poder estadístico de 0.8, y un tamaño de efecto f de acuerdo con los hallazgos de *Fujimori et. al (2017)*.

Para TNF- α :

```
pwr.anova.test(k = 3, n = NULL, f = 0.347, sig.level = 0.05, power = 0.8)
```

Balanced one-way analysis of variance power calculation

$k = 3$

$n = 27.69553$

$f = 0.347$

sig.level = 0.05

power = 0.8

Para IL-6:

```
pwr.anova.test(k = 3, n = NULL, f = 0.29, sig.level = 0.05, power = 0.8)
```

Balanced one-way analysis of variance power calculation

$k = 3$

$n = 39.20346$

$f = 0.29$

sig.level = 0.05

power = 0.8

De acuerdo con el cálculo del tamaño de muestra para la IL-6 se determinó una n de 117 participantes, es decir, 39 participantes por cada grupo de acuerdo con su clasificación por BIVA en los tres grupos: normopeso, sobrepeso y obesidad.

8.4 Análisis de las variables

Para el análisis descriptivo, se analizó la distribución de las variables continuas con la prueba de Shapiro-Wilk y se graficó por medio de QQplots, también se evaluó la homogeneidad de la varianza mediante la prueba de Levene.

Los datos de las variables con distribución normal se presentan como media y desviación estándar, y los de distribución no normal como mediana y rangos intercuartílicos. Para las variables categóricas y dicotómicas se muestran como frecuencias y porcentajes.

La asociación entre las concentraciones de citocinas, al no cumplir con las suposiciones para la prueba de análisis de varianza (ANOVA) se utilizó la prueba de Krukal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Siegel an Castellan.

Se realizó un modelo de regresión multivariada en el cual se incluyan como variables explicativas:

- $TNF-\alpha \sim Resistencia + Reactancia + \text{Ángulo de fase} + Edad + Gesta$
- $IL-1\beta \sim Resistencia + Reactancia + \text{Ángulo de fase} + Edad + Gesta$
- $IL-6 \sim Resistencia + Reactancia + \text{Ángulo de fase} + Edad + Gesta$

Se consideró como estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó con el programa R versión 4.02 para Mac.

8.5 Concordancia de las mediciones

Para asegurar la calidad de las mediciones de la variable de salida se realizó el análisis de concordancia de las siguientes variables: peso, talla y bioimpedancia de la madre, utilizando el coeficiente de correlación intraclass de Lin (CCI) entre la investigadora principal y el MPSS.

Para realizar la concordancia de las mediciones, primero se capacitó con un taller teórico y práctico al MPSS a cargo de la investigadora principal (certificado nivel 1 para la toma de medidas antropométricas por la International Society for the Advancement of Kinanthropometry). Posteriormente, se hizo un taller práctico con 7 voluntarios con quienes cada observador y el investigador principal harán las mediciones de peso y talla, para realizar la concordancia de las mediciones.

El cálculo del tamaño de muestra para CCI se realizó con la fórmula cuando el valor de la CCI en la hipótesis nula se puede asumir igual a cero (asumir inicialmente que no hay consistencia en primer lugar) (48).

$$n = 1 + \frac{2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 k}{(\ln C_0)^2 (k - 1)}$$

| Observation per Subject | ICC | Number of subjects (power=80%) | Number of subjects (power=90%) |
|-------------------------|-----|--------------------------------|--------------------------------|
| 2 | 0.2 | 152 | 210 |
| | 0.3 | 66 | 91 |
| | 0.4 | 36 | 50 |
| | 0.5 | 22 | 30 |
| | 0.6 | 15 | 20 |
| | 0.7 | 10 | 13 |
| | 0.8 | 7 | 9 |
| | 0.9 | 5 | 6 |

κ= Número de evaluadores

R0= valor de ICC que está preespecificado en la hipótesis nula.

R1= valor de ICC que está preespecificado en la hipótesis alternativa.

Alfa= error tipo I de la prueba

Power: el poder deseado

Se realizó la concordancia entre la investigadora principal y el MPSS con 12 participantes voluntarios (7 del taller práctico + 5 voluntarios extras) a quienes se les tomó peso, talla y bioimpedancia utilizando el mismo equipo que se utiliza para todas las participantes.

Se realizó un análisis de la varianza de medidas repetidas con dos factores (Two way) con un modelo de efectos mixtos (ICC3), el cual supone que los n sujetos son una muestra aleatoria mientras que los k evaluadores constituyen la totalidad de la población de evaluadores. Se obtuvieron los siguientes ICC:

Tabla 2. Coeficientes de correlación intraclase obtenidos

| | ICC3 | IC al 95% |
|-------------|-------|---------------|
| Peso | 0.999 | 0.9996-0.9999 |
| Talla | 0.986 | 0.962-0.995 |
| Resistencia | 0.997 | 0.993-0.999 |
| Reactancia | 0.964 | 0.904-0.987 |

8.6 Control de calidad de las mediciones mediante citometría de flujo

Se realizó una curva estándar con 6 puntos de la curva por triplicado, con las mediciones se determinaron 10 controles de calidad por grupo, las cuales se realizaron por duplicado. Las determinaciones de cada muestra se interpolaron en la curva estándar para obtener la medición cuantitativa de cada citocina.

9. Aspectos éticos

Este estudio fue evaluado y aprobado por el Comité del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” y por el Comité de Investigación del Hospital del Niño y la Mujer “Dr. Alberto López Hermosa”. Su elaboración se basó en las normas nacionales e internacionales que establecen los principios éticos para la investigación en seres humanos como el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la norma oficial mexicana NOM-012-SSA3-2012, que concuerdan con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, y el Protocolo de Estambul.

De acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en su título II capítulo I, artículo 17, este estudio se consideró de riesgo mínimo, debido a que se realizó un procedimiento común de carácter poco invasivo y no se interfirió en el tratamiento de los pacientes.

La carta de consentimiento informado fue elaborada de acuerdo con los lineamientos previamente mencionados. El proceso de obtención del consentimiento informado se hizo conforme las Guías de Buenas Prácticas Clínicas, se informó a la paciente sobre el objetivo, justificación, beneficios y riesgos de participación del estudio, se aseguró que la suscrita en ejercicio de su libre voluntad, previa comprensión del estudio y sin la influencia de terceras personas y con la debida capacidad legal, otorgara su consentimiento.

El manejo de los datos obtenidos fue realizado exclusivamente por los investigadores a cargo, manteniendo la confidencialidad de la información en todo momento.

9.1 Conflictos de interés

Los investigadores responsables de este estudio no tienen conflicto de interés derivados de la pretensión de obtener beneficios económicos, por sí mismos, o a través de la participación de otras instancias.

10. Plan de factibilidad por contingencia Covid-19

Se tomó en cuenta a las pacientes que hayan seguido el protocolo Covid-19 dentro del hospital y se utilizaron las medidas de prevención y seguridad necesarias a la hora de la toma de la muestra y protección del personal y participantes.

11. Recursos

11.1 Recursos humanos

Investigadora principal, MPSS Héctor Segovia y asesores Dr. Mauricio Pierdant, Dra. Mariana Salgado y Dra. Victoria Lima.

11.2 Recursos materiales

- Frascos para la recolección de muestra
- Equipo informático
- Kit comercial Human Premixed Multi-Analyte
- Citómetro de flujo Luminex BD
- Analizador de composición corporal RJL, modelo Quantum X
- Estadímetro SECA, modelo 216
- Hielera térmica

11.3 Recursos financieros

El costo del Kit comercial para la medición de citocinas fue cubierto por el Laboratorio Bioquímica y Epigenética de la Facultad de Medicina UASLP. Dentro del Hospital Central ya se contaba con estadímetro, báscula y equipo de bioimpedancia. El resto de los gastos fueron cubiertos por la beca CONACYT CVU 890114

12. Cronograma de actividades

Tabla 3. Cronograma de actividades

| | Marzo - Julio 2020 | Septiembre 2020 | Octubre - Marzo 2021 | Julio 2021 - Febrero 2022 | Febrero 2022 | Marzo-Julio 2022 |
|--|--------------------|-----------------|----------------------|---------------------------|--------------|------------------|
| Elaboración del protocolo | | | | | | |
| Presentación ante el comité académico de la MCIC | | | | | | |
| Presentación ante el comité de ética del Hospital Central | | | | | | |
| Recolección de datos | | | | | | |
| Procesamiento de las muestras | | | | | | |
| Interpretación de los datos obtenidos y análisis estadístico | | | | | | |
| Presentación de los resultados | | | | | | |

13.Resultados

Se reclutaron un total de 117 participantes, es decir, 39 en cada grupo: normopeso, sobrepeso y obesidad. Presentaban una media de edad de 25.3 ± 5.1 años, se categorizó a las participantes mediante el trazado en las elipses de tolerancia de los valores de resistencia y reactancia ajustadas por su talla, obtenidos de la bioimpedancia, y se clasificaron según el percentil donde se encontraban con respecto al eje de tejido corporal (figura 3). Para el grupo de normopeso encontramos una media de edad de 23 ± 4.36 años, para el grupo de sobrepeso de 24.7 ± 5.29 años y para el grupo de obesidad de 28.1 ± 4.49 años, encontrando una diferencia significativa entre los grupos ($p < 0.0001$) (tabla 4).

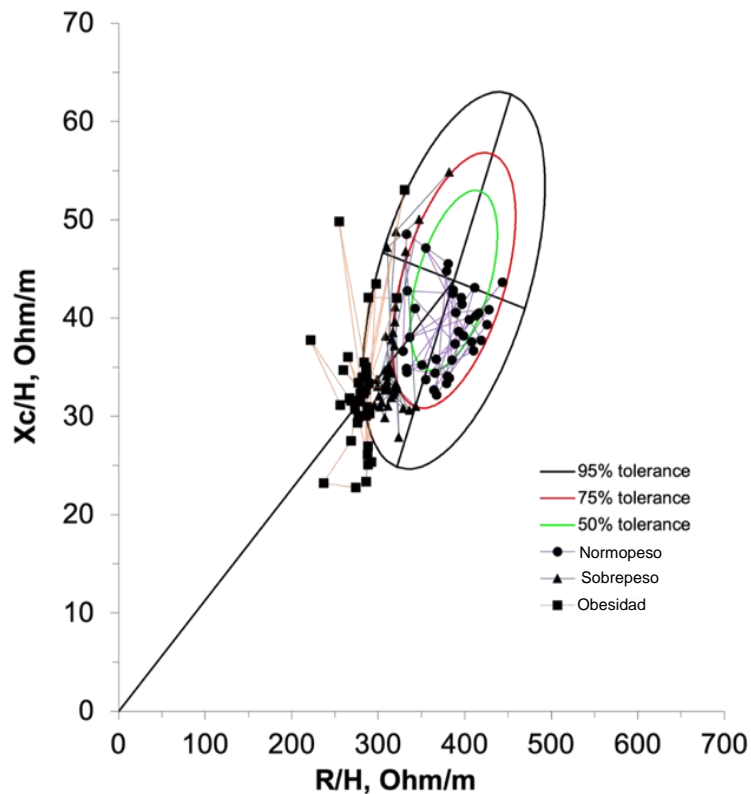


Figura 3. Análisis de vectores de bioimpedancia participantes

Se evaluaron las características basales de las participantes número de partos encontramos una mediana para el grupo de normopeso de 1, y para los grupos de sobrepeso y obesidad de 2 partos, por los que no encontramos diferencias significativas. Para el número de gesta observamos una mediana de 2 para el grupo de normopeso y sobrepeso y de 3 para el grupo de obesidad (tabla 3), se observó una diferencia significativa ($p < 0.005$) entre los grupos.

Tabla 4. Características de las participantes

| | Todos (n=117) | Normopeso (n=39) | Sobrepeso (n=39) | Obesidad (n=39) | Valor de p |
|--|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Edad (años) | | | | | |
| Media \pm DE | 25.3 \pm 5.15 | 23 \pm 4.36 | 24.7 \pm 5.29 | 28.1 \pm 4.49 | <0.0001¶ |
| Gesta (#) | | | | | |
| Mediana [Min, Máx] | 2 [1, 6] | 2 [1, 5] | 2 [1, 6] | 3 [1, 6] | 0.005§ |
| Partos (#) | | | | | |
| Mediana [Min, Máx] | 2 [1, 6] | 1 [1, 3] | 2 [1, 6] | 2 [1, 6] | 0.072§ |
| Semanas de gestación (#) | | | | | |
| Mediana [Min, Máx] | 39.4 [37, 41.3] | 39.4 [37.2, 41.2] | 39.4 [37, 41] | 39.3 [37, 41.3] | 0.611§ |
| IMC pregestacional (Kg/m²) | | | | | |
| Media \pm DE | 26.2 \pm 5.47 | 22.5 \pm 2.99 | 26.4 \pm 5.69 | 29.5 \pm 4.99 | <0.001¶ |
| IMC posparto (Kg/m²) | | | | | |
| Media \pm DE | 29 \pm 4.97 | 25 \pm 2.63 | 28.7 \pm 3.89 | 33.2 \pm 4.33 | <0.0001§ |
| Resistencia (Ω/m) | | | | | |
| Media \pm DE | 330 \pm 47.9 | 383 \pm 32.4 | 318 \pm 14.9 | 283 \pm 21.8 | <0.0001§ |
| Reactancia (Ω/m) | | | | | |
| Media \pm DE | 36.4 \pm 6.07 | 39.3 \pm 4.66 | 35.9 \pm 6.18 | 34.1 \pm 6.22 | <0.001¶ |
| Ángulo de fase (°) | | | | | |
| Media \pm DE | 6.42 \pm 1.10 | 5.88 \pm 0.76 | 6.43 \pm 0.924 | 6.73 \pm 1.13 | <0.001¶ |

¶Prueba ANOVA. §Prueba de rangos sumados Kruskal- Wallis

Se evaluó el IMC pregestacional (utilizando peso pregestacional referido por la participante), encontramos para el grupo de normopeso una media de 22.5 \pm 2.99 Kg/m², para el grupo de sobrepeso 28.7 \pm 3.89 Kg/m², y de 29.5 \pm 4.99 Kg/m² para el grupo de obesidad, encontrando una diferencia significativa entre los grupos

Para las variables relacionadas con el estado nutricional de las madres: el IMC pregestacional, el IMC postparto; y los valores de la bioimpedancia resistencia y reactancia, se encontraron diferencias estadísticamente significativas con $p < 0.0001$ entre los tres grupos (tabla 4 y figura 4).

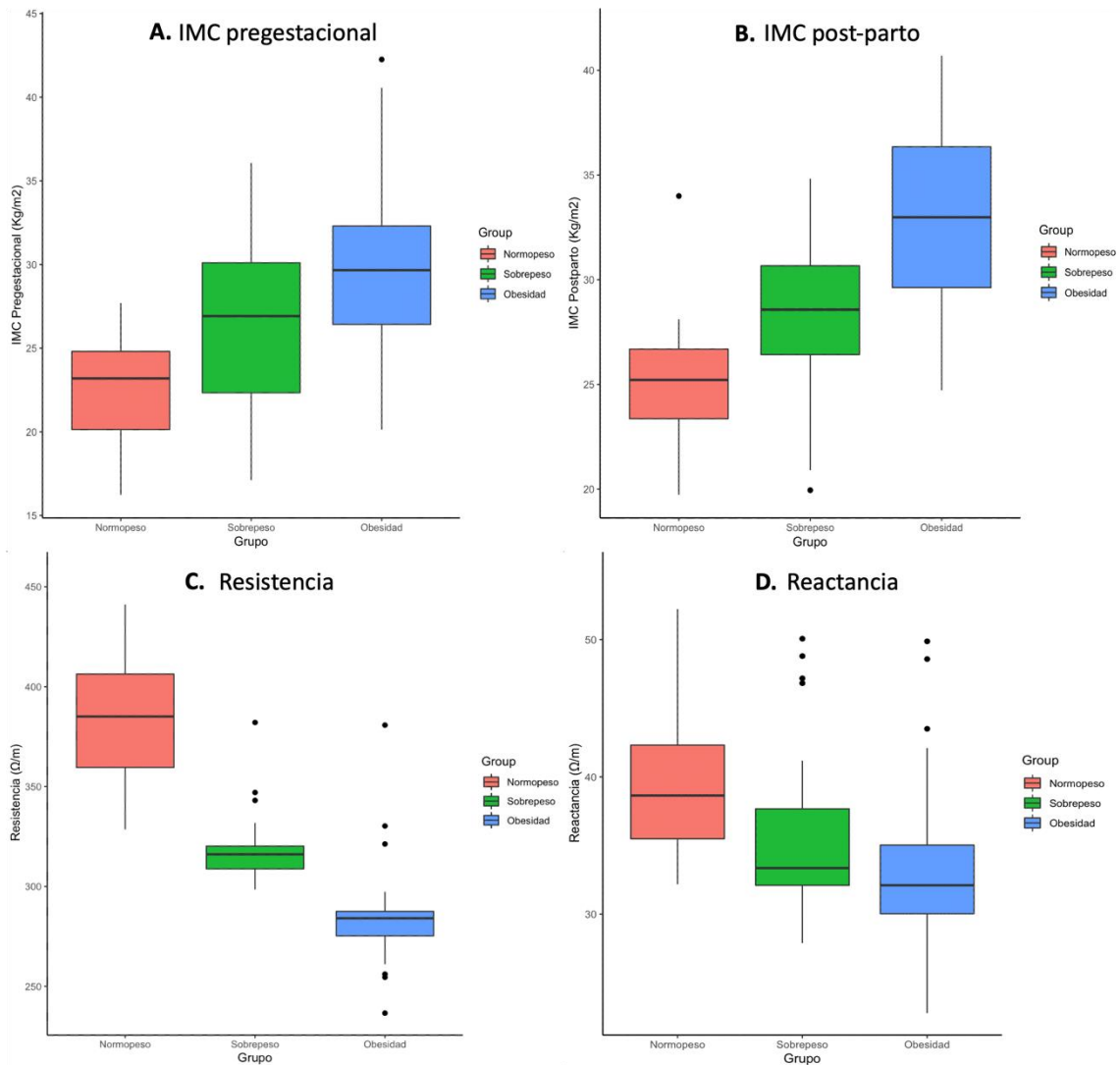


Figura 4. Diferencias estado nutricional entre grupos

En cuanto a las características de los recién nacidos de las participantes, encontramos un peso promedio al nacer de 3.27 ± 0.384 Kg, y entre los grupos una media de 3.20 ± 0.291 Kg, 3.34 ± 0.322 Kg, 3.27 ± 0.502 Kg para el grupo de normopeso, sobrepeso y obesidad, respectivamente no se encontró una diferencia significativa. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para ninguna de las variables: el puntaje de Apgar (al nacer y a los cinco minutos), el sexo, su edad gestacional (Prueba de Capurro), ni la longitud (tabla 5).

Tabla 5. Características de los recién nacidos

| | Todos (n=117) | Normopeso (n=39) | Sobrepeso (n=39) | Obesidad (n=39) | Valor de p |
|----------------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------|
| Apgar al minuto | | | | | |
| Media ± DE | 8.16 ± 0.629 | 8.21 ± 0.522 | 8.28 ± 0.605 | 8 ± 0.725 | 0.123¶ |
| Apgar a los cinco minutos | | | | | |
| Media ± DE | 8.98 (0.185) | 9.03 ± 0.16 | 8.95 ± 0.223 | 8.97 ± 0.16 | 0.174¶ |
| Sexo bebé | | | | | |
| Femenino (%) | 54 (46.2%) | 20 (51.3%) | 16 (41%) | 18 (46.2%) | 0.661‡ |
| Masculino (%) | 63 (53.8%) | 19 (48.7%) | 23 (59%) | 21 (53.8%) | |
| Prueba de Capurro (SDG) | | | | | |
| Mediana [Min, Máx] | 39.2 [37.0, 42.0] | 39.5 [37, 42] | 39.0 [37, 40.4] | 39.2 [37, 42] | 0.242§ |
| Peso al nacer (Kg) | | | | | |
| Media ± DE | 3.27 ± 0.384 | 3.20 ± 0.291 | 3.34 ± 0.322 | 3.27 ± 0.502 | 0.307¶ |
| Longitud (cm) | | | | | |
| Media ± DE | 50.5 ± 2.31 | 50.3 ± 2.21 | 51 ± 2.26 | 50.1 ± 2.41 | 0.188¶ |

¶Prueba ANOVA. §Prueba de rangos sumados Kruskal-Wallis ‡ Chi-cuadrada

Para la concentración de las citocinas en el calostro materno se eliminaron tres valores atípicos extremos, los cuales al ser revisados tenían altas posibilidades de ser erróneos, se comparó el análisis y a pesar de haber eliminarlos no hubo cambios significativos. Para la concentración de IL-1 β se encontró una media de 69.5 ± 103 pg/ml en el grupo de normopeso (n=39), 79.7 ± 97.9 pg/ml en el grupo de sobrepeso (n=38) y de 68.7 ± 108 pg/ml en el de obesidad (n=37). Se evaluaron y no se encontraron diferencias en la concentración de IL-1 β en el calostro materno entre los grupos con un valor de p=0.1197: sin embargo, podemos observar una tendencia de concentración más elevada hacia el grupo de sobrepeso (figura 5). El tamaño del efecto es pequeño con un valor de eta² de 0.021 (tabla 6).

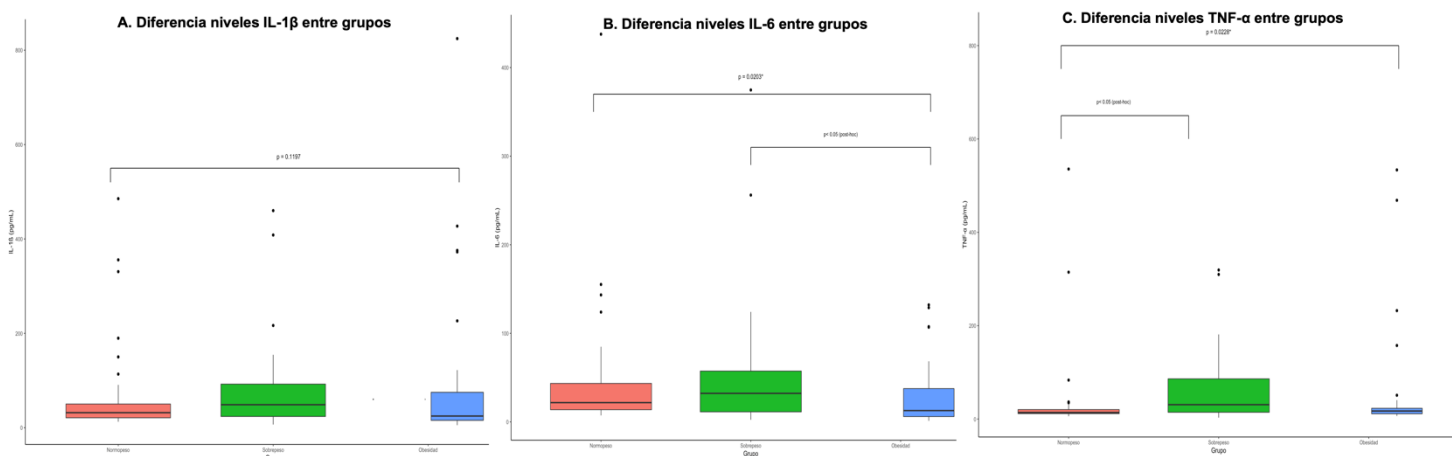


Figura 5. Diferencias entre grupos de citocinas proinflamatorias

En cuanto a la concentración de IL-6 en calostro para los grupos de normopeso, sobrepeso y obesidad se encontró un promedio de 48.1 ± 74.1 pg/ml, 55 ± 72.4 pg/ml y 28.9 ± 36.2 pg/ml, respectivamente. Se encontró una diferencia entre los tres grupos estadísticamente significativa entre los grupos con un valor de $p=0.0203$ y tamaño de efecto pequeño con η^2 de 0.052, y al hacer un análisis post-hoc de comparación de Siegel an Castellan se encontró una diferencia significativa ($p<0.05$) entre las concentraciones de IL-6 entre el grupo de sobrepeso y obesidad (tabla 6).

Tabla 6. Diferencias en la concentración de citocinas en el calostro

| | Normopeso (n=39) | Sobrepeso (n=38) | Obesidad (n=37) | ϵ^2 | eta ² | Valor de p |
|----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------|------------------|---------------|
| IL-1β (pg/ml) | | | | | | |
| Media ± DE | 69.5 ± 103 | 79.7 ± 97.9 | 68.7 ± 108 | 0.038 | 0.021 | 0.1197 |
| Mediana [Min, Máx] | 31.8 [12.7, 485] | 49.9 [6.71, 460] | 24.4 [5.50, 427] | | | |
| IL-6 (pg/ml) | | | | | | |
| Media ± DE | 48.1 ± 74.1 | 55 ± 72.3 | 29.3 ± 35.9 | 0.068 | 0.0521 | 0.0203 |
| Mediana [Min, Máx] | 21.8 [7.31, 438] | 33.1 [2.43, 375]^o | 12.8 [3.83, 132]^o | | | |
| TNF-α (pg/ml) | | | | | | |
| Media ± DE | 38.6 ± 95.4 | 58.7 ± 74.9 | 52.6 ± 115 | 0.067 | 0.0496 | 0.0228 |
| Mediana [Min, Máx] | 14.1 [6.11, 536]^o | 26.6 [2.96, 319]^o | 17.2 [6.56, 534] | | | |

Prueba de rangos sumados Kruskal- Wallis ^o p<0.05 en Post-Hoc Siegel an Castellan

Se obtuvo una media en la concentración de TNF-α en calostro de 38.6 ± 95.4 pg/ml para el grupo de normopeso, de 58.7 ± 74.9 pg/ml para el grupo de sobrepeso y de 52.6 ± 115 para el grupo de obesidad. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la

concentración entre los grupos con una $p=0.0228$ (figura 5), teniendo un tamaño de efecto pequeño con un valor de η^2 de 0.0496. En el análisis post-hoc se encontró una diferencia significativa ($p<0.05$) entre la concentración del grupo de normopeso y la del grupo de sobrepeso (tabla 6).

Se realizó el análisis comparando los grupos de normopeso y sobrepeso, y únicamente se encontró una diferencia significativa para la concentración de TNF- α entre ambos con una diferencia de medias -9.81 IC al 95% (-24.6, -2.9) con una $p=0.0038$, esta diferencia se vuelve más significativa comparada con el análisis de los tres grupos (tabla 7).

Tabla 7. Diferencias en la concentración de citocinas en el calostro

| | Normopeso (n=38) | Sobrepeso (n=38) | DM (IC 95%) | Valor de p |
|--|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------|
| IL-1β (pg/ml) | | | | |
| Media \pm DE | 69.5 \pm 103 | 82 \pm 97.6 | | |
| Mediana [Min, Máx] | 31.8 [12.7, 485] | 50.6 [6.7, 460] | -10.67 (-33, 2.37) | 0.1107 |
| IL-6 (pg/ml) | | | | |
| Media \pm DE | 37.8 \pm 37.7 | 46.4 \pm 49.7 | | |
| Mediana [Min, Máx] | 21.4 [7.31, 155] | 32.2 [2.43, 256] | -4.93 (-20, 5.46) | 0.4359 |
| TNF-α (pg/ml) | | | | |
| Media \pm DE | 25.5 \pm 50 | 58.7 \pm 74.9 | | |
| Mediana [Min, Máx] | 14.1 [6.11, 315] | 26.6 [2.96, 319] | -9.81 (-24.6, -2.9) | 0.0038 |

Prueba U de Mann-Whitney

Finalmente, se realizó un modelo de regresión para asociar otros factores (Resistencia + Reactancia + Ángulo de fase + Edad) con la concentración de cada citocina. Empezando con el modelo inicial.

- TNF- α ~ Resistencia + Reactancia + Ángulo de fase + Edad + Gesta
- IL-1 β ~ Resistencia + Reactancia + Ángulo de fase + Edad + Gesta
- IL-6 ~ Resistencia + Reactancia + Ángulo de fase + Edad + Gesta

Se hizo la evaluación de multicolinealidad, y se utilizó el método de pasos hacia atrás para la simplificación de los tres modelos; sin embargo, no hubo ninguna variable significativa para ninguno de los modelos iniciales, ni finales. Además, el modelo final no mostraba una diferencia significativa al ser comparados con su modelo basal (solo el intercepto).

Tabla 8. Regresión lineal múltiple

| Citocina | Modelo | Variabes | B | Error estándar | Valor de p |
|-----------------|---------------|-----------------|----------|-----------------------|-------------------|
| TNF- α | Inicial | Resistencia | -0.65 | 0.555 | 0.238 |
| | | Reactancia | 4.99 | 4.95 | 0.315 |
| | | Ángulo de fase | -50.18 | 46.18 | 0.28 |
| | | Gesta | -0.290 | 9.49 | 0.773 |
| | | Edad | -1.03 | 1.97 | 0.601 |
| | Final | Resistencia | -0.11 | 0.14 | 0.483 |
| | | Edad | -1.37 | 1.93 | 0.479 |
| IL-1 β | Inicial | Resistencia | -0.31 | 0.71 | 0.657 |
| | | Reactancia | 2.38 | 6.36 | 0.709 |
| | | Ángulo de fase | -39.8 | 59.33 | 0.504 |
| | | Gesta | 0.249 | 12.28 | 0.804 |
| | | Edad | 1.92 | 2.54 | 0.45 |
| | Final | Resistencia | -0.11 | 0.17 | 0.526 |
| | | Ángulo de fase | -17.07 | 12.17 | 0.163 |
| IL-6 | Inicial | Resistencia | -0.07 | 0.36 | 0.843 |
| | | Reactancia | 0.66 | 3.26 | 0.838 |
| | | Ángulo de fase | -9.7 | 30.43 | 0.75 |
| | | Gesta | 1.076 | 6.32 | 0.284 |
| | | Edad | -1.9 | 1.3 | 0.145 |
| | Final | Edad | -2.11 | 1.14 | 0.067 |

B, coeficiente de regresión

14. Discusión

Este estudio tenía como objetivo buscar una asociación entre la concentración de las citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-1 β e IL-6 en el calostro humano dentro de las primeras 24 horas posparto y la composición corporal de las madres; encontrando que no existe una asociación entre los niveles de las citocinas y los componentes de la composición corporal materna. Sin embargo, una diferencia en la concentración de TNF- α e IL-6 en el calostro humano entre los grupos estudiados fue evidente.

Obtuvimos un IMC pregestacional (utilizando peso referido) para el grupo de normopeso de 22.5 ± 2.99 Kg/m², para el grupo de sobrepeso 26.4 ± 5.69 Kg/m² y de 29.5 ± 4.99 Kg/m² para el grupo de obesidad, comparando con Fujimori et al. ellos obtuvieron valores de IMC pregestacional similares 22 (18.5-24.9) Kg/m² para el grupo de normopeso, 27.35 (25.2-29.2) Kg/m² para el grupo de sobrepeso y de 34.4 (30.8-38.3) Kg/m² para el grupo de obesidad (30).

Comparando la media que obtuvimos de los grupos para el IMC pregestacional y la media del IMC posparto podemos observar su aumento con 25 ± 2.63 Kg/m² para el grupo de normopeso, de 28.7 ± 3.89 Kg/m² para el grupo de sobrepeso, y finalmente de 33.2 ± 4.33 Kg/m² para el grupo de obesidad.

Debido a los cambios en la composición corporal durante el embarazo utilizamos los BIVA dentro de las primeras 24 horas para clasificar en tres grupos a las participantes. Así también consideramos la ganancia de peso gestacional al momento de realizar la clasificación a diferencia de otros investigadores que han utilizado el IMC pregestacional o el IMC meses después del parto para realizar su clasificación (22,30,33,44).

Al utilizar el trazado de los parámetros de la bioimpedancia sobre las elipses de tolerancia, nos permite observar las diferencias en la composición corporal que hay entre los grupos. La ventaja de utilizar los BIVA es que ubicamos a los grupos por los percentiles dentro del análisis, ya que es difícil la evaluación del estado nutricional durante el embarazo por los diferentes cambios que se dan como: la variación que hay en el peso, el crecimiento del bebé, el aumento de agua corporal, masa grasa y masa muscular. Moroni et al. proponen el uso de bioimpedancia para la clasificación nutricional durante esta etapa, ya que permite evaluar los cambios que se dan en el agua corporal total, la hidratación y la ganancia fisiológica de masa grasa (14,49). Además, plantean podrían ser utilizados como examen de rutina para una

detección temprana de valores anómalos potencialmente correlacionados con patologías (49).

En relación con nuestro objetivo principal nosotros encontramos que no existe una asociación directa o proporcional entre los niveles de citocinas estudiadas aquí y los componentes del estado nutricional materno. Lo cual podría deberse a que en el grupo de obesidad los niveles de citocinas se encuentran abatidas con respecto de los otros grupos de estudio. La tendencia clara observada fue que el estado pro-inflamatorio más importante se observa en el grupo de sobrepeso, con respecto del calostro de madres normopeso. En las muestras obtenidas de las madres con parámetros que las clasifican como con obesidad se encontraron las citocinas en valores disminuidos, incluso sin diferencia con los de normopeso. Se ha reportado previamente que los cambios más dramáticos e importantes de los parámetros inflamatorios y metabólicos suceden durante el sobrepeso, cuando se ha alcanzado la obesidad, una serie de procesos de adaptación, que involucran la tolerancia, la pérdida de la capacidad a responder a estímulos o retos inflamatorios se llevan a cabo, debido al agotamiento por el estado inflamatorio crónico de bajo grado mantenido (54).

La concentración media de TNF- α encontrada en los tres grupos fue de 38.6 ± 95.4 pg/mL para normopeso, 58.7 ± 74.9 pg/mL para sobrepeso, 52.6 ± 115 pg/mL para obesidad, al comparar con los niveles reportados en calostro previamente son más elevadas, con niveles de 10.58 ± 1.77 pg/mL, 11.67 ± 2.1 pg/mL, 12.91 ± 2.44 pg/mL para el grupo de normopeso, sobrepeso y obesidad, respectivamente (30). Esta variación se puede deber a los diferentes criterios de selección, diferencias demográficas en la población, hora y condiciones de la toma de muestra (0-24h vs 24-48h), entre otros, ya que los niveles de citocinas tienden a disminuir conforme progresan las diferentes etapas de la lactancia materna y hay otros factores que pueden influir en la composición de la leche (21,50).

De las citocinas estudiadas TNF- α , fue la única que presentó una diferencia significativa entre el grupo de normopeso y sobrepeso, creemos que esto pueda ser un factor desencadenante asociado a una diferente respuesta al estado proinflamatorio durante el embarazo entre las participantes con normopeso y sobrepeso; o bien, podría deberse a un mecanismo de adaptación de un sistema de feedback para el recién nacido.

Los resultados coinciden con los datos publicados anteriormente por Christian y Porter, donde evaluaron los cambios en los marcadores proinflamatorios séricos durante el

embarazo de acuerdo con el IMC pregestacional de la madre, y observaron que el grupo de sobrepeso presentaba mayores niveles séricos de TNF- α a lo largo del embarazo en comparación con el grupo de normopeso y obesidad. En su estudio los valores séricos de TNF- α para el grupo de obesidad se encontraban entre el grupo de normopeso y sobrepeso (51).

El TNF- α de la leche materna es secretado principalmente por los macrófagos presentes en la leche materna y por el epitelio mamario. Presenta una acción proinflamatoria y es uno de los principales mecanismos de defensa primarios, se cree que uno de sus papeles en leche materna es el mejorar los componentes inmunitarios del recién nacido quien tiene una producción defectuosa de TNF- α , o bien ayudar en la maduración del epitelio del sistema gastrointestinal (52). Se pretende produce estos efectos sin causar inflamación, debido a la presencia de receptores específicos en la leche (53). Sin embargo; no se conoce específicamente qué papel juega en la señalización para el recién nacido y que diferencias habría entre los bebés que consumen leche materna con una concentración baja de TNF- α comparado con los que consumen leche materna con mayor concentración de esta citocina.

Con relación a la concentración de IL-1 β en el calostro humano pudimos observar una tendencia incremental entre el grupo de normopeso y el de sobrepeso; y una tendencia a disminuir su concentración en el grupo de obesidad. Sin embargo, no encontramos una diferencia estadísticamente significativa.

Este hallazgo coincide con los resultados previamente reportados en niveles séricos durante el embarazo, donde el grupo de sobrepeso tiende a tener mayores niveles de IL-1 β al final del embarazo y en el periodo posparto en comparación con el grupo de normopeso y obesidad. Aunque tampoco se reportan diferencias significativas llama la atención que permanezca esta tendencia de una mayor concentración de IL-1 β tanto en calostro como en niveles séricos en las mujeres dentro del grupo de sobrepeso (51).

En nuestro estudio encontramos una concentración de IL-1 β promedio de las 117 participantes de 44.2 ± 64 pg/mL, la concentración reportada previamente en calostro humano de 49 participantes fue de 17 ± 64 pg/mL, por lo que encontramos una mayor concentración (52).

Se cree la función de IL-1 β en la leche materna es mediar la respuesta inflamatoria, y también participa en la proliferación, diferenciación y apoptosis de las células (21). Sin embargo, el

impacto de la IL-1 β proveniente de la leche materna en el desarrollo del bebé todavía no está claro.

Respecto a los niveles de IL-6 en este estudio pudimos observar una tendencia incremental no significativa entre el grupo de normopeso y el grupo de sobrepeso, y se encontró una diferencia significativa entre el grupo de sobrepeso y el de obesidad ($p < 0.05$) presentando niveles más bajos en el grupo de obesidad.

Para IL-6 encontramos una media de 48.1 ± 74.1 pg/mL, 55 ± 72.3 pg/mL y 29.3 ± 35.9 pg/mL para los grupos normopeso, sobrepeso y obesidad, respectivamente. Comparando con otro estudio donde se reportan niveles dentro de los tres grupos de 34.73 ± 7.68 pg/mL en normopeso, 38.2 ± 7.07 pg/mL en sobrepeso, y 44.04 ± 10.28 pg/mL en obesidad (30), en nuestro estudio se reportan niveles más elevados para todos los grupos, en especial para el grupo de sobrepeso y además, presentamos una mayor variación de la concentración dentro de cada grupo, aunque nuestro tamaño muestral fue mayor.

Contrario a lo que se planteó en la hipótesis podemos observar una disminución en el grupo de obesidad y no cumplir con una relación lineal como pensábamos que sucedería, aunque en condiciones fisiológicas se ha reportado un incremento de IL-6 durante el embarazo (51). Pareciera que en el grupo de sobrepeso hubo elementos que no estamos identificando que favorecieron mayormente el estado proinflamatorio.

La IL-6 es producida principalmente por monocitos, macrófagos, células Th2 y células epiteliales mamarias. Esta citocina se cree participa en la inmunidad humoral, ayudando a regular la producción de interferón, y estimulando a IgM e IgA. También ayuda a disminuir la producción proinflamatoria de IL-1 y TNF- α (42). Se pretende además, tiene efectos sobre la regulación del metabolismo (33). No obstante, el papel funcional y la importancia de la IL-6 y los marcadores proinflamatorios presentes en la leche materna aún no se han explicado por completo.

Cabe recalcar que a pesar de que la obesidad es un estado proinflamatorio por sí mismo, y además el embarazo es otro estado fisiológico en el que se favorece la inflamación, no encontramos niveles más elevados de las citocinas proinflamatorias en el grupo de obesidad. Aunque pensaríamos que presentarían mayor inflamación como se da fuera del embarazo, pudimos observar una tendencia en la concentración de citocinas de “normalizarse” en comparación con las del grupo de sobrepeso.

Puede haber diferentes teorías respecto a este fenómeno, la primera podría ser que las participantes en el grupo de sobrepeso al incrementar de peso se encuentran en un estado proinflamatorio agudo a diferencia del grupo de obesidad que se ha vuelto una condición crónica, y que probablemente previo al embarazo ya presentaban un estado proinflamatorio. Por lo que en el grupo de sobrepeso se puede ver una mayor respuesta al estado proinflamatorio agudo por el embarazo y la ganancia de peso corporal.

Otra explicación podría ser que las participantes en el grupo de obesidad al tener un estado proinflamatorio crónico previo al embarazo, hayan sufrido un proceso de cronificación de este estado por lo que su sistema deja de responder o bien, estabiliza los niveles de citocinas proinflamatorias durante el embarazo (54).

Además, otro elemento a destacar es que las mujeres reclutadas en este estudio tenían obesidad, pero no presentaban ninguna comorbilidad, ni tuvieron complicaciones durante el embarazo o el parto, y seguramente esto también influyó a que se exhibiera este comportamiento.

Una fortaleza de este estudio es la clasificación de las participantes al momento de su ingreso utilizando el análisis de bioimpedancia, tomando en cuenta la ganancia de peso gestacional y no dependiendo de valores referidos. Otra ventaja es la unificación de criterios a la hora de la toma de muestra, pudiendo disminuir las variaciones diurnas y entre tomas que presenta la leche materna. Además, es un estudio realizado en mujeres sanas que no presentaron complicaciones durante el transcurso del embarazo y del parto, ni infecciones en el último trimestre y fueron reclutadas en el periodo de posparto dentro de las primeras 24 horas, eliminando así algunos factores reportados que pueden alterar la concentración de las citocinas.

Existen algunas limitaciones en el presente estudio como son que, aunque se hizo un cálculo del tamaño muestral utilizando hallazgos previos, probablemente nuestro poder muestral haya sido bajo y no fue suficiente para observar las diferencias entre grupos. Sin embargo, pudimos observar esta tendencia de un incremento de los niveles de citocina proinflamatorias entre el grupo de normopeso y sobrepeso y luego tiende a haber una disminución entre el grupo de sobrepeso y obesidad.

Otra limitación fue el diseño transversal que no nos permite estudiar si esta diferencia permanece en el tiempo, ya que los marcadores inmunológicos disminuyen conforme transcurren las etapas de la lactancia. Además, faltaría estudiar que sucede con los recién nacidos que, por ejemplo, ingieren leche materna con mayor concentración de citocinas proinflamatorias, cuál es el papel que tienen estos marcadores en la leche materna sobre el recién nacido. Finalmente, nuestro análisis cubrió solo tres citocinas, por lo que los resultados pueden no ser generalizables para todas las citocinas proinflamatorias.

Este estudio representa un primer acercamiento para describir los niveles de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) en el calostro materno de mujeres sanas con diferente composición corporal en población mexicana. Sin embargo, se deben realizar más estudios para comprender mejor el ambiente inflamatorio durante la lactancia materna y el embarazo, así como el impacto que estas diferencias pueden tener sobre la salud de los recién nacidos. Este estudio contribuye con generar información que apoye los programas de educación materna para el cuidado perinatal y el impacto positivo que puede tener sobre la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles en la población mexicana.

15. Conclusiones

- La bioimpedancia de las mujeres participantes promedio fue de $330 \pm 47.9 \Omega/m$ para la resistencia, de $36.4 \pm 6.07 \Omega/m$ para la reactancia y $6.42 \pm 1.10^\circ$ para el ángulo de fase, y obtuvimos un índice de masa corporal posparto promedio de $29 \pm 4.97 \text{ Kg/m}^2$.
- Se clasificó a las participantes de acuerdo con su percentil y cuadrante utilizando los vectores de impedancia eléctrica, pudimos observar una diferencia estadísticamente significativa en los valores de resistencia y reactancia entre grupos.
- Se obtuvieron 117 muestras de calostro mediante la técnica de extracción manual y se cuantificaron los niveles de citocinas obteniendo un promedio de $49.9 \pm 96.1 \text{ pg/mL}$ para TNF- α , de $44.2 \pm 64 \text{ pg/mL}$ para IL-6 y de $79.3 \pm 124 \text{ pg/mL}$ para IL-1 β .
- Para la concentración de IL-6 en calostro en promedio de los grupos se obtuvo $48.1 \pm 74.1 \text{ pg/ml}$ para normopeso, $55 \pm 72.4 \text{ pg/ml}$ para sobrepeso y $28.9 \pm 36.2 \text{ pg/ml}$ para obesidad, y se encontró una diferencia significativa entre los grupos; para la concentración de TNF- α obtuvimos una media $38.6 \pm 95.4 \text{ pg/ml}$ para el grupo de normopeso, de $58.7 \pm 74.9 \text{ pg/ml}$ para el grupo de sobrepeso y de 52.6 ± 115 para el grupo de obesidad, y se encontró una diferencia significativa entre el grupo de normopeso y sobrepeso, finalmente, para la concentración de IL-1 β se encontró una media de $69.5 \pm 103 \text{ pg/ml}$ para normopeso , $79.7 \pm 97.9 \text{ pg/ml}$ para sobrepeso y de $68.7 \pm 108 \text{ pg/ml}$ para obesidad, y no se encontraron diferencias entre los grupos.

16. Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. OMS | Obesidad [Internet]. Who. 2016 [cited 2020 Jun 21]. Available from: <https://www.who.int/topics/obesity/es/>
2. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y Sobrepeso [Internet]. Nota descriptiva N°311. 2020 [cited 2020 Jun 21]. p. 2. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
3. Rothman KJ. BMI-related errors in the measurement of obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Aug;32 Suppl 3:S56-9.
4. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* [Internet]. 2015 Jul;33(7):673–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25471927>
5. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso [Internet]. 2016 [cited 2017 Apr 25]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
6. Teresa Shamah Levy, Lucía Cuevas Nasu, Martín Romero Martínez, Elsa Berenice Gaona Pineda, Luz María Gómez Acosta, Laura Rosario Mendoza Alvarado, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 Presentación de resultados. 2018.
7. Rtveldze K, Marsh T, Barquera S, Sanchez Romero LM, Levy D, Melendez G, et al. Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutr*. 2014 Jan;17(1):233–9.
8. Shamah-Levy T, Ruiz-Matus C, Rivera-Dommarco J, Kuri-Morales P, Cuevas-Nasu L, Jiménez-Corona M, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. Cuernavaca, México Inst Nac Salud Pública. 2017;(ENSANUT):1–154.
9. Dutton H, Borengasser SJ, Gaudet LM, Barbour LA, Keely EJ. Obesity in Pregnancy: Optimizing Outcomes for Mom and Baby. *Med Clin North Am*. 2018 Jan;102(1):87–106.
10. Chen C, Xu X, Yan Y. Estimated global overweight and obesity burden in pregnant women based on panel data model. *PLoS One*. 2018;13(8):e0202183.
11. Arredondo A, Torres C, Orozco E, Pacheco S, Aragón A, Huang F, et al. Indicadores socioeconómicos de la obesidad materna en México y Francia. Análisis comparado de dos cohortes. *Rev salud pública* [Internet]. 2018;20:245–53. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642018000200245&nrm=iso
12. Widen EM, Gallagher D. Body composition changes in pregnancy: measurement, predictors and outcomes. *Eur J Clin Nutr*. 2014 Jun;68(6):643–52.

13. Most J, Marlatt KL, Altazan AD, Redman LM. Advances in assessing body composition during pregnancy. *Eur J Clin Nutr.* 2018 May;72(5):645–56.
14. Lukaski HC, Hall CB, Siders WA. Assessment of change in hydration in women during pregnancy and postpartum with bioelectrical impedance vectors. *Nutrition.* 2007;23(7–8):543–50.
15. Piccoli A. Whole body--single frequency bioimpedance. *Contrib Nephrol.* 2005;149:150–61.
16. Ghezzi F, Franchi M, Balestreri D, Lischetti B, Mele MC, Alberico S, et al. Bioelectrical impedance analysis during pregnancy and neonatal birth weight. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001 Oct;98(2):171–6.
17. Espinosa-Cuevas M, Hivas-Rodriguez L, Gonzalez-Medina E. Vectores de impedancia bioelectrica para la composicion corporal en poblacion mexicana. *Rev Invest Clin.* 2007;59(1):15–24.
18. Hersoug L-G, Linneberg A. The link between the epidemics of obesity and allergic diseases: does obesity induce decreased immune tolerance? *Allergy.* 2007 Oct;62(10):1205–13.
19. Das UN. Is obesity an inflammatory condition? *Nutrition.* 2001;17(11–12):953–66.
20. Godfrey KM, Reynolds RM, Prescott SL, Nyirenda M, Jaddoe VW V, Eriksson JG, et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *lancet Diabetes Endocrinol.* 2017 Jan;5(1):53–64.
21. Fields DA, Schneider CR, Pavela G. A narrative review of the associations between six bioactive components in breast milk and infant adiposity. *Obesity (Silver Spring).* 2016 Jun;24(6):1213–21.
22. Young BE, Levek C, Reynolds RM, Rudolph MC, MacLean P, Hernandez TL, et al. Bioactive components in human milk are differentially associated with rates of lean and fat mass deposition in infants of mothers with normal vs. elevated BMI. *Pediatr Obes.* 2018 Oct;13(10):598–606.
23. Kwon EJ, Kim YJ. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstet Gynecol Sci.* 2017 Nov;60(6):506–19.
24. Lindsay KL, Buss C, Wadhwa PD, Entringer S. The Interplay between Maternal Nutrition and Stress during Pregnancy: Issues and Considerations. *Ann Nutr Metab.* 2017;70(3):191–200.
25. Marciniak A, Patro-Małyśza J, Kimber-Trojnar Ż, Marciniak B, Oleszczuk J, Leszczyńska-Gorzelak B. Fetal programming of the metabolic syndrome. *Taiwan J*

- Obstet Gynecol. 2017 Apr;56(2):133–8.
26. Fall CHD, Kumaran K. Metabolic programming in early life in humans. *Philos Trans R Soc London Ser B, Biol Sci.* 2019 Apr;374(1770):20180123.
 27. Osmond C, Barker DJ. Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. *Environ Health Perspect.* 2000 Jun;108 Suppl(Suppl 3):545–53.
 28. González de Cosío-Martínez T, Hernández-Cordero S, Rivera-Dommarco J, Hernández-Ávila M, Cosío-Martínez TG de, Hernández-Cordero S, et al. Recomendaciones para una política nacional de promoción de la lactancia materna en México: postura de la Academia Nacional de Medicina. *Salud Publica Mex [Internet].* 2017 Jan 3 [cited 2020 Jul 6];59(1):106. Available from: <http://www.saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/8102>
 29. Chan D, Goruk S, Becker AB, Subbarao P, Mandhane PJ, Turvey SE, et al. Adiponectin, leptin and insulin in breast milk: associations with maternal characteristics and infant body composition in the first year of life. *Int J Obes (Lond).* 2018 Jan;42(1):36–43.
 30. Fujimori M, França EL, Morais TC, Fiorin V, de Abreu LC, Honório-França AC. Cytokine and adipokine are biofactors can act in blood and colostrum of obese mothers. *Biofactors.* 2017 Mar;43(2):243–50.
 31. World Health Organization. Breastfeeding [Internet]. [cited 2020 Jul 3]. Available from: https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1
 32. ENSANUT 2012: Análisis de sus principales resultados. *Salud Pública Méx [Internet].* 2013;55:S81–2. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342013000800002&nrm=iso
 33. Fields DA, George B, Williams M, Whitaker K, Allison DB, Teague A, et al. Associations between human breast milk hormones and adipocytokines and infant growth and body composition in the first 6 months of life. *Pediatr Obes.* 2017 Aug;12 Suppl 1(Suppl 1):78–85.
 34. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev.* 2015 Nov;91(11):629–35.
 35. Bzikowska-Jura A, Czerwonogrodzka-Senczyzna A, Olędzka G, Szostak-Węgierek D, Weker H, Wesółowska A. Maternal Nutrition and Body Composition During Breastfeeding: Association with Human Milk Composition. *Nutrients.* 2018

Sep;10(10).

36. Mosca F, Gianni ML. Human milk: composition and health benefits. *Pediatr Med Chir.* 2017 Jun;39(2):155.
37. Erliana UD, Fly AD. The Function and Alteration of Immunological Properties in Human Milk of Obese Mothers. *Nutrients.* 2019 Jun;11(6).
38. Eriksen KG, Christensen SH, Lind M V, Michaelsen KF. Human milk composition and infant growth. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2018 May;21(3):200–6.
39. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC Pediatr.* 2014 Aug;14:216.
40. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013 Feb;60(1):49–74.
41. Saso A, Blyuss O, Munblit D, Faal A, Moore SE, Le Doare K. Breast Milk Cytokines and Early Growth in Gambian Infants. *Front Pediatr.* 2018;6:414.
42. Brenmoehl J, Ohde D, Wirthgen E, Hoeflich A. Cytokines in milk and the role of TGF-beta. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018 Jan;32(1):47–56.
43. Marek A, Zagierski M, Liberek A, Aleksandrowicz E, Korzon M, Krzykowski G, et al. TGF-beta(1), IL-10 and IL-4 in colostrum of allergic and nonallergic mothers. *Acta Biochim Pol.* 2009;56(3):411–4.
44. Young BE, Patinkin ZW, Pyle L, de la Houssaye B, Davidson BS, Geraghty S, et al. Markers of Oxidative Stress in Human Milk do not Differ by Maternal BMI But are Related to Infant Growth Trajectories. *Matern Child Health J.* 2017 Jun;21(6):1367–76.
45. Garofalo R. Cytokines in human milk. *J Pediatr.* 2010 Feb;156(2 Suppl):S36-40.
46. Agarwal S, Karmaus W, Davis S, Gangur V. Immune markers in breast milk and fetal and maternal body fluids: a systematic review of perinatal concentrations. *J Hum Lact Off J Int Lact Consult Assoc.* 2011 May;27(2):171–86.
47. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr.* 2012 Sep;96(3):544–51.
48. Bujang MA. A simplified guide to determination of sample size requirements for estimating the value of intraclass correlation coefficient: A review. *Arch Orofac Sci.* 2017 Jun 1;12:1–11.
49. Moroni A, Vardè C, Giustetto A, Stagi S, Marini E, Micheletti Cremasco M. Bioelectrical Impedance Vector Analysis (BIVA) for the monitoring of body

- composition in pregnancy. *Eur J Clin Nutr.* 2022 Apr;76(4):604–9.
50. Ferrari DV de J, Polettini J, de Moraes LL, de Campos LA, da Silva MG, Saeki EK, et al. Profile of pro-inflammatory cytokines in colostrum of nursing mothers at the extremes of reproductive age. *PLoS One.* 2020;15(6):e0231882.
 51. Christian LM, Porter K. Longitudinal changes in serum proinflammatory markers across pregnancy and postpartum: effects of maternal body mass index. *c*
 52. Ustundag B, Yilmaz E, Dogan Y, Akarsu S, Canatan H, Halifeoglu I, et al. Levels of cytokines (IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha) and trace elements (Zn, Cu) in breast milk from mothers of preterm and term infants. *Mediators Inflamm.* 2005 Dec;2005(6):331–6.
 53. Dawod B, Marshall JS. Cytokines and Soluble Receptors in Breast Milk as Enhancers of Oral Tolerance Development. *Front Immunol.* 2019;10:16.
 54. Fang X, Henao-Mejia J, Henrickson SE. Obesity and immune status in children. *Curr Opin Pediatr.* 2020 Dec;32(6):805–15.
 55. Norton KI. Standards for Anthropometry Assessment. *Kinanthropometry and Exercise Physiology.* 2019. 68–137 p.

17.Anexos

Anexo 1. Carta aceptación Comité de la MCIC

Anexo 2. Carta de aceptación del Comité de Ética y de Investigación del Hospital Central

Anexo 3. Carta de aceptación Hospital del Niño y la Mujer

Anexo 4. Búsqueda Avanzada

(Cytokines[MeSH Terms] OR Cytokines[Title/Abstract] OR Biological Factors[MeSH Terms] OR Biological Factors[Title/Abstract] OR Biologic Agents[Title/Abstract] OR Biologic Factors[Title/Abstract] OR Biological Agents[Title/Abstract] OR Biological Factor[Title/Abstract] OR Factor, Biologic[Title/Abstract] OR Factor, Biological[Title/Abstract] OR Factors, Biological[Title/Abstract] OR Adipokines[MeSH Terms] OR Adipokines[Title/Abstract] OR Adipocytokines[Title/Abstract] OR Adipokine[Title/Abstract]) AND (milk, human[MeSH Terms] OR milk, human[Title/Abstract] OR breast milk[Title/Abstract] OR milk, breast[Title/Abstract] OR human milk[Title/Abstract] OR Colostrum[Mesh Terms] OR Colostrum[Title/Abstract]) AND (Body Composition[MeSH Terms] OR Body Composition[Title/Abstract] OR Anthropometry[MeSH Terms] OR Anthropometry[Title/Abstract] OR Obesity, Maternal[MeSH Terms] OR Obesity, Maternal[Title/Abstract] OR Maternal Obesity[Title/Abstract] OR Obesity in Pregnancy[Title/Abstract] OR Obesity[MeSH Terms] OR Obesity[Title/Abstract] OR Nutritional Status[Title/Abstract] OR Body Mass Index[MeSH Terms] OR Body Mass Index[Title/Abstract] OR Index, Body Mass[Title/Abstract] OR Quetelet Index[Title/Abstract] OR Index, Quetelet[Title/Abstract] OR Quetelet's Index[Title/Abstract] OR Quetelets Index[Title/Abstract]) (Leche Humana OR Leche Materna OR Leche de la Madre OR Calostro) AND (Citocinas OR Citoquina OR Citoquinas OR Factores biológicos OR Adipoquinas) AND (Índice de Masa Corporal OR Índice de Quetelet OR Estado Nutricional OR Obesidad OR Obesidad Materna OR Composición Corporal)

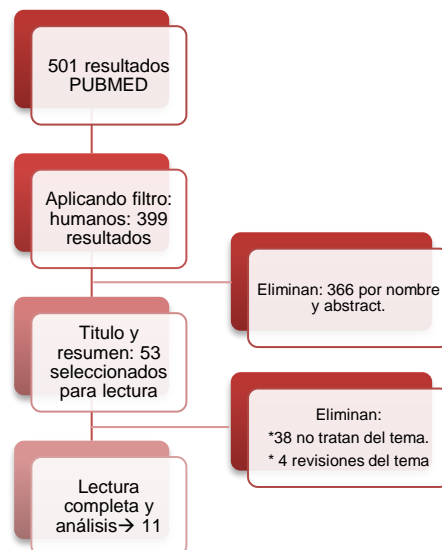


Figura 6. Búsqueda PUBMED

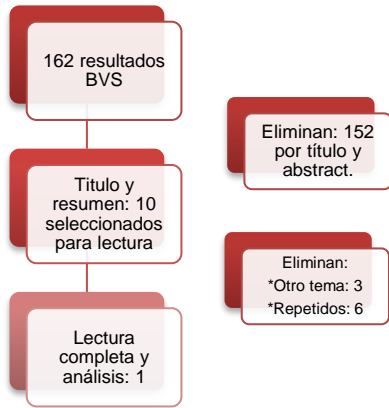


Figura 7. Búsqueda BVS



Tabla 9. Revisión de artículos

| Título, autores y año de publicación | Diseño y tamaño muestra | Objetivo y criterios de inclusión | Análisis citocinas, tipo de leche y resultados | Desventajas |
|--|---|---|---|--|
| <p>Bioactive components in human milk are differentially associated with rates of lean and fat mass deposition in infants of mothers with normal vs. elevated BMI</p> <p>B. E. Young, C. Levek, R. M. Reynolds, M. C. Rudolph, P. MacLean T. L. Hernandez, J. E. Friedman and N. F. Krebs (2018)</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>n=41 (25 normopeso (NP) y 16 sobrepeso (SP)/obesidad (OB))</p> | <p>Modelar el crecimiento del lactante y los patrones de composición corporal durante los primeros 4 meses con múltiples componentes bioactivos de la leche humana (y factores clínicos (incluido el estado materno del IMC), que están relacionados con el crecimiento.</p> <p>Inclusión: edad de 20-36, IMC pregestacional <40 kg/m², embarazo único, planea lactancia materna exclusiva (LME) al menos 4 meses. Exclusión: Enfermedades renales, diabetes, enfermedades relacionadas con el embarazo DG, hipertensión o parto prematuro (<37 SDG).</p> | <p>Las citocinas inflamatorias IL-6, IL-8 y TNF-α se midieron simultáneamente usando un ensayo Milliplex de cuentas magnética, leche transición y madura.</p> <p>No se muestran los resultados de la composición de la LM. Se muestra un modelo de crecimiento asociado únicamente con insulina.</p> <p>La insulina fue el único componente de LM que permaneció significativo en este modelo y el efecto difirió según el IMC materno. La asociación de la insulina de la LM con puntuación z fue significativamente diferente entre las madres NP y SP/OB (P = 0.019), fue negativa.</p> | <p>Tamaño muestra</p> <p>Se une el grupo de sobrepeso y obesidad.</p> <p>Leche transición y madura.</p> <p>Variable de salida puntuación z de P/T → a los 4 meses.</p> |
| <p>Associations of Maternal Weight Status Before, During, and After Pregnancy with Inflammatory Markers in Breast Milk</p> <p>Kara M. Whitaker, Regina C. Marino, Jacob L. Haapala, Laurie Foster, Katy D. Smith, April M. Teague, David R. Jacobs Jr., Patricia L. Fontaine, MD., Patricia M. McGovern, PhD, Tonya C. Schoenfuss, Lisa Harnack, David A. Fields, and Ellen W. Demerath (2017)</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>n=134 (67 NP, 38 SP, 29 OB)</p> | <p>Examinar las asociaciones del peso materno antes, durante y después del embarazo con la PCR de la leche materna y la IL-6.</p> <p>Inclusión: 21 a 45 años, IMC pregestacional 18.5 y 40.0 kg/m², intención de (LME) durante al menos 3 meses, parto entre las 37-42 SDG, peso al nacer 2.5 a 4.5 kg, embarazo único. Exclusión: consumo de tabaco o alcohol (\geq1/semana) durante el embarazo o la lactancia; antecedentes o presencia actual de diabetes mellitus (tipo 1, tipo 2 o gestacional); probable o enfermedad metabólica, endocrina conocida, enfermedad congénita conocida que afecta la alimentación o el crecimiento del lactante, no hablar o entender inglés.</p> | <p>La IL-6 se midió en LM madura (al mes y 3 meses) sin diluir utilizando un ELISA quimioluminiscente de R&D Systems. La variabilidad interensayo para PCR e IL-6 fue de 5.5% y 12.8%, y la variabilidad intraensayo fue de 4.7% y 9.1%, respectivamente.</p> <p>IL-6 → niveles al mes 4.4 (2.0-12.2) pg/mL y a los 3 meses 2 (0.9-5.2) pg/ml, p<0.001.</p> <p>Se observaron asociaciones significativas para la educación materna y la edad gestacional al momento del parto; por lo tanto, estas variables se incluyeron como posibles factores de confusión en los modelos ajustados. No se observaron asociaciones significativas entre el IMC materno y la IL-6 en ninguno de los modelos probados (modelo crudo, ajustado por SDG y educación, ajustado por IMC pregestacional, educación y SDG).</p> <p>La IL-6 transformada logarítmicamente se correlacionó con el tiempo (r = 0.29, P <0.001).</p> <p>Los niveles de IL-6 en suero no están asociados con los niveles de IL-6 en la leche materna humana (Pedersen et. al, 2016).</p> | <p>No se menciona de que grupo fueron las pérdidas de las pacientes.</p> <p>No se realizó en calostro, donde los niveles de IL son mayores.</p> <p>Únicamente se analiza una citocina.</p> <p>Se encontraron asociaciones entre IMC materno y PCR.</p> |
| <p>Markers of oxidative stress in human milk do not differ by maternal BMI but are related to infant growth trajectories</p> <p>Bridget E. Young Zachary W. Patinkin, Laura Pyle, Becky de la Houssaye, Nancy Krebs (2017)</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>n= 56 (33 NP, 23 SP/OB)</p> | <p>1) Determinar si el SP/OB materna se asocia con una alteración en la composición de macronutrientes de LM, en la concentración de citocinas inflamatorias o marcadores de estrés oxidativo</p> <p>2) Determinar si la variación en estas características de LM se asocia con patrones de crecimiento rápido que ponen al bebé en riesgo de obesidad posterior.</p> <p>Inclusión: embarazo único, sin</p> | <p>Se midieron IL-6, IL-8, IL-10 and TNF-α en LM transición a las 2 semanas y madura a los 4 meses simultáneamente usando un ensayo Milliplex de cuentas magnéticas (Millipore, Billerica, MA).</p> <p>Se clasificó según el IMC posparto a los 6 meses, teniendo un 51% mujeres con NP, 27% con SP y 22% con Ob.</p> <p>Las concentraciones de citocinas en LM fueron ampliamente variables en cada grupo. Las concentraciones de IL-6 y TNF-α en LM disminuyeron con el tiempo (p <0,0001). Estas disminuciones correspondieron al 6%</p> | <p>Tamaño de muestra IMC posparto (6 meses)</p> <p>Se unen grupo de sobrepeso y obesidad</p> <p>LM madura/transición</p> <p>Distribución muestra 51% NP.</p> |

| | | | | |
|---|---|--|---|--|
| | | <p>otras complicaciones como (DG o preeclampsia), intención de LME por ≥ 6 meses, domicilio cercano al hospital. Exclusión: Parto antes de las 37 SDG, peso al nacer < 2.5 kg (reportado por la madre).</p> | <p>de las concentraciones originales de IL-6; 69% de las concentraciones originales de IL-8; y un 15% de las concentraciones originales de TNF-α.</p> <p>Controlando la disminución de la proteína total, las concentraciones de IL-6, IL-8 y TNF-α a las 2 semanas se correlacionaron significativamente con la concentración a los 4 meses ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.31$; $p = 0.004$, $R^2 = 0.15$; $p < 0.0001$, $R^2 = 0.41$, respectivamente).</p> <p>La concentración de tres citocinas se correlacionó entre sí tanto a las 2 semanas como a los 4 meses ($p < 0.0001$, $R^2 \geq 0.3$).</p> <p>- IL-6 \rightarrow 2 semanas 9.6 ± 19.9 pg/mL; NP 12.1 ± 25.3 pg/mL, SP y OB 6.0 ± 5.8 pg/mL, $p = 0.26$. 4 meses \rightarrow 3.0 ± 6.2 pg/mL; NP 3.4 ± 7.4 pg/mL, SP y OB 2.3 ± 3.7 pg/mL, $p = 0.5$. $p > 0.0001$ (S2 y M4))</p> <p>- IL-8 \rightarrow 2 semanas 97.0 ± 137.5 pg/mL; NP 111.5 ± 190.8 pg/ml, SP y OB 98.3 ± 146.0 pg/mL, $p = 0.78$. 4 meses \rightarrow 67.0 ± 92.9 pg/ml; NP 74.2 ± 112.9 pg/mL, SP y OB 56.1 ± 50.7 pg/mL, $p = 0.48$. $p > 0.068$ (S2 y M4)</p> <p>- TNF-α \rightarrow 2 semanas 4.3 ± 2.9 pg/mL, NP 4.3 ± 3.1 pg/mL, SP y OB 4.4 ± 2.6 pg/mL, $p = 0.85$. 4 meses \rightarrow 3.0 ± 2.4 pg/mL, NP 2.9 ± 2.5 pg/mL, SP y OB 3.0 ± 2.2 pg/mL, $p = 0.88$. $p > 0.012$ (S2 y M4)</p> <p>Ni los macronutrientes, densidad calórica ni citocinas de la LM individuales se relacionaron con P/T Z score infantil a las 2 semanas o 4 meses.</p> | |
| <p>Human milk insulin is related to maternal plasma insulin and BMI: but other components of human milk do not differ by BMI.</p> <p>Young BE, Patinkin Z, Palmer C, de la Houssaye B, Barbour LA, Hernandez T, Friedman JE, Krebs NF. (2017)</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>n= 48 (26 NP y 22 SP/OB)</p> | <p>Comparar componentes bioactivos en LM que puedan estar asociados con un trastorno metabólico (adipocinas, hormonas anabólicas y reguladoras del apetito, macronutrientes y marcadores de inflamación y estrés oxidativo) entre madres sanas versus madres con sobrepeso/obesidad.</p> <p>Relacionar componentes específicos del fenotipo materno (IMC, concentraciones de hormonas circulantes, sensibilidad a la insulina y % de pérdida de peso) y la composición de LM.</p> <p>Inclusión: 21 a 36 años, IMC 17-39.9, consentimiento en embarazo, intención de LME ≤ 4 meses, mujeres sanas. Exclusión: enfermedades crónicas (cardiopulmonares, reumatológicas y renales) en tratamiento, diabetes gestacional, preeclampsia, parto prematuro.</p> | <p>Se midieron las citocinas (IL-6, IL-8 y TNF-a) en LM las 2 semanas, 1, 2, 3 y 4 meses y plasma, simultáneamente usando un ensayo Milliplex de cuentas magnéticas de alta sensibilidad (Millipore, Billerica, MA).</p> <p>- No se observaron cambios en los niveles séricos maternos de citocinas (IL-6, IL-8 y TNF-α) con el tiempo, pero si disminución en los niveles en LM.</p> <p>Ni el IMC materno, la pérdida de peso, la paridad, la edad ni el sexo infantil se relacionaron consistentemente con los macronutrientes, citocinas, hormonas y marcadores de estrés oxidativo de la LM.</p> <p>Niveles en LM.</p> <p>- IL-6 \rightarrow 2 semanas (n=48): 25.1 ± 51.3 pg/mL, 1 mes (n=34): 15.7 ± 27.1 pg/mL, 2 meses (n=32): 16.7 ± 32.4 pg/mL, 3 meses (n=30): 6.7 ± 8.6 pg/mL, 4 meses (n=40): 5.2 ± 8.6 pg/mL $p < 0.001$ (transformación Log para comparar cambio en el tiempo, controlando las posibles diferencias entre grupos)</p> <p>- TNF-a \rightarrow 2 semanas (n=48): 11.1 ± 14.6 pg/mL, 1 mes (n=34): 10.5 ± 13 pg/mL, 2 meses (n=32): 8.9 ± 7 pg/mL, 3 meses (n=30): 8.3 ± 7.1 pg/mL, 4 meses (n=40): 6 ± 4.9 pg/mL, $p = 0.023$</p> | <p>Se unen grupo SP/OB</p> <p>Autoreportan IMC</p> <p>Tamaño de la muestra</p> <p>Leche madura</p> |

| | | | | |
|--|--|---|---|--|
| <p>Associations between human breast milk hormones and adipocytokines and infant growth and body composition in the first six-months of life</p> <p>Fields DA, George B, Williams M, Whitaker K, Allison DB, Teague A, Demerath EW. (2017)</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>Se midieron al mes (n=37) y a los 6 meses (n=30).</p> | <p>Ampliar el conocimiento de LM al investigar el papel del IMC materno, el sexo y la etapa de lactancia (mes 1 vs. 6) en insulina, glucosa, leptina, IL-6 y TNF-α de la LM y sus asociaciones con la composición corporal infantil.</p> <p>Inclusión: 18–45 años, gestación > 37 semanas y parto único. Exclusión: cualquier consumo de tabaco durante la gestación, consumo de alcohol definido como >1 bebida por semana, diabetes o defectos de nacimiento congénitos presuntos o conocidos.</p> | <p>LM madura analizada utilizando kits de inmunoensayo disponibles en el mercado para insulina, leptina, IL-6 y TNF-α.</p> <p>No se observaron asociaciones significativas entre glucosa, TNF-α o IL-6 y los predictores: categoría de IMC materno, sexo infantil o etapa de lactancia. (p > 0,0648).</p> <p>IL-6 \rightarrow al mes (n=37): 3.7 (1.7–7.1) pg/mL, a los 6 meses(n=30): 2.2 (1.6–7.0) pg/mL. TNF-a \rightarrow al mes (n=37): 4.1 (1.7–7.4) pg/mL, a los 6 meses(n=30): 4.8 (2.8–7.0) pg/mL.</p> <p>No se observaron asociaciones significativas entre glucosa, TNF-α o IL-6 y los predictores: categoría de IMC materno, sexo o etapa de lactancia.</p> <p>Las asociaciones observadas entre TNF-α de LM y la masa grasa total (p = 0.0843) justifican una investigación adicional dada su magnitud y el tamaño de la muestra de este estudio exploratorio.</p> | <p>Tamaño de la muestra</p> <p>Leche madura</p> <p>IMC pregestacional, no considera aumento de peso en el embarazo</p> <p>Se analiza según IMC materno y sexo del niño, quedan con grupos con n \leq 5</p> |
| <p>Cytokine and adipokine are biofactors can act in blood and colostrum of obese mothers</p> <p>Mahmi Fujimori, Eduardo Luzia Franc, Tassiane Cristina Morais, Vanessa Fiorin, Luiz Carlos de Abreu, Adenilda Cristina Honoorio-Franc (2016)</p> | <p>Observacional, transversal</p> <p>n=45 (NP 15, SP 15 y OB 15).</p> | <p>Determinar marcadores hormonales e inmunológicos en sangre y calostro (24-48 h posparto) de madres con sobrepeso y obesidad.</p> <p>Inclusión: 18-38 años, sin mastitis ni fisuras en senos, LME y firma del consentimiento informado. Exclusión: malformaciones fetales y embarazo múltiple.</p> <p>Variables controladas (dicotómicas) HAS, fumar, diabetes gestacional. Medicamentos: antiinflamatorios, procesos o condiciones inflamatorias. y/o infecciosas.</p> | <p>Se midieron en calostro las citocinas (IL-6, IL-10 y TNF-a) mediante una <i>matriz de cuentas citométricas</i> (CBA, BD Biosciences) de acuerdo con los procedimientos del fabricante. Se usó un citómetro de flujo.</p> <p>Las madres obesas presentaban los niveles más altos de suero de IL-6 y TNF-a, mientras que en el calostro estas citoquinas mostraron concentraciones similares entre los grupos.</p> <p>IL-6 \rightarrow Calostro: NP 34.73 \pm 7.68 pg/mL, SP 38.20 \pm 7.07 pg/mL, OB 44.04 \pm 10.28 pg/mL. ANOVA p=0.5530 Séricos: NP 1.73 \pm 0.18 pg/mL, SP 2.87 \pm 0.67 pg/mL, OB 4.03 \pm 0.76 pg/mL (*diferencia intergrupar). ANOVA p=0.0152</p> <p>TNF-α \rightarrow Calostro NP 10.58 \pm 1.77 pg/mL, SP 11.67 \pm 2.10 pg/mL, OB 12.91 \pm 2.44 pg/mL. ANOVA p=0.753 Séricos: NP 5.49 \pm 0.70 pg/mL, SP 5.68 \pm 0.64 pg/mL, OB 8.63 \pm 0.61 pg/mL (*diferencia intergrupar). ANOVA p=0.0383</p> | <p>No especifica la hora y condiciones en que se toma muestra de calostro.</p> <p>No muestra diferencias entre las características maternas basales.</p> <p>No se calcula tamaño de la muestra</p> <p>No describen de donde se obtiene el IMC pregestacional.</p> |
| <p>Changes in the Immune Components of Preterm Human Milk and Associations With Maternal and Infant Characteristics</p> <p>Groer M, Ashmeade T, Duffy A, Morse S, Zaritt J.J (2016)</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>n=76 (56 semana 1) (MOM=29)</p> | <p>Describir la diferencia en las citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento y la inmunoglobulina secretora A (sIgA) en la leche materna de las madres de prematuros y las características materno-infantiles relacionadas con estos componentes inmunes.</p> <p>examinar la inmunobiología y el volumen de leche humana que los bebés prematuros recibían cada día \rightarrow Leche solo de la madre (grupo)</p> <p>Inclusión: 750-1500 g, UCIN. Exclusión: anomalías congénitas mayores, cirugía y lactante moribundo. Madre: VIH +, abuso de drogas.</p> | <p>no se tomo en cuenta día de extracción de la LM, se analizaron IL-4, IL-10, TNF-a, IL-6, IL-8 la mezcla de leche kits Millipore (EMD Millipore, Billerica, MA), coeficientes de variación intraensayos <10%.</p> <p>Los niveles de citocinas disminuyeron durante el período posparto.</p> <p>Correlación entre el TNF-a de leche prematura y todas las quimiocinas (rango r = .3 – .4, p <.001). TNF-a e IL-6 estaban altamente correlacionados (r = .63, p <.001).</p> <p>En general, todas las variables inmunes fueron mayores en la leche de madres de bebés menores de 1,000 g, IP-10 (F (1, 70) = 4.8, p <.03) fue significativamente mayor en la muestra total, y TNF-a (F (1, 68) = 3.75, p <.06) fue casi significativamente mayor en la muestra total y el subgrupo.</p> | <p>Uso de mezclas de leche</p> <p>Diferente tipo de leche (calostro, transición, madura)</p> <p>Distinta población con diferentes rangos de pesos, edad gestacional, se incluyen embarazos múltiples.</p> <p>Únicamente se muestran las gráficas y no las tablas del contenido de citocinas.</p> |

| | | | | |
|--|---|---|---|--|
| <p>Pre- and perinatal characteristics and breast milk immune markers</p> <p>Jessica Burch, Wilfried Karmaus, Venu Gangur, Nelis Soto-Ramírez, Mitra Yousefi and Laura M. Goetzl (2013)</p> | <p>Observacional, cohorte ambiespectiva</p> <p>n=115</p> | <p>Determinar si la enfermedad materna (asma, rinitis, eccema e infección urogenital durante el embarazo) y las características de la enfermedad (tabaquismo, exposición a mascotas, raza, IMC, edad y educación), influyen en los niveles de citocinas, quimiocinas y IgA en la leche materna.</p> <p>Se incluyeron durante el segundo trimestre.</p> <p>Inclusión: >18 años, sin enfermedades crónicas (diabetes, tiroides, trastornos adrenales, infecciones crónicas), planeaban mantenerse en el área durante 9 meses, dispuestas a donar muestra LM a las 2 semanas.</p> <p>Exclusión: No específica.</p> | <p>Muestra en promedio a las 3 (1-8) semanas posparto. Las concentraciones de IL-1β, IL-4, IL-5, IL-6, CXCL8 (IL-8), IL-10, IL-12, IL-13, CXCL10, CCL11 y IFN-γ en suero de LM se realizó utilizando el sistema Bioplex Protein Array (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA).</p> <p>Las mujeres con antecedentes de asma tenían más probabilidades de tener concentraciones más altas de IL-5 en el suero de leche materna que las mujeres sin el mismo (P = 0.02)</p> <p>IL-5 \rightarrow n=84 mediana 0.1 (0, 2.12) pg/mL. IL-6 \rightarrow n=84 mediana 1.06 (0.75, 20.64) pg/mL. CXCL8 \rightarrow n=84 mediana 5.6 (0.46, 265.07) pg/mL. IL-13 \rightarrow n=115 mediana 0.46 (0, 5.31) pg/mL. IFN-γ \rightarrow n=115 mediana 1.59 (1.07, 102.53) pg/mL. CXCL10 \rightarrow n=115 mediana 270.25 (1.91, 10,184.6) pg/mL. TGF-β1 \rightarrow n=1 86 mediana 4.35 (0.13, 2931.48) pg/mL.</p> <p>El tabaquismo gestacional se relacionó con niveles cinco veces mayores de IL-6 (8,30 pg/ml en comparación con 1,88 pg/ml)</p> <p>Un IMC materno preconcepcional más alto se asoció con niveles disminuidos de la citocina IL-13 (P = 0.01) y niveles disminuidos de la citocina proinflamatoria IFN-γ (P = 0.02.).</p> <p>La edad materna se asoció con una disminución de la concentración de TGF-β1 (P = 0.04)</p> | <p>LM transición</p> <p>No especifican de donde sale IMC</p> <p>No fue diseñado para las diferencias con IMC</p> |
| <p>Relationship of Insulin, Glucose, Leptin, IL-6 and TNF-α in Human Breast Milk With Infant Growth and Body Composition</p> <p>D A Fields, E W Demerath (2012)</p> | <p>Observacional, transversal</p> <p>n= 19 (IMC= 18.5-42)</p> | <p>Evaluar la asociación de las hormonas reguladoras del apetito y los factores de crecimiento (leptina, insulina, glucosa) y los factores inflamatorios (IL-6 y TNF-α) en la leche materna humana con el tamaño del lactante, la adiposidad y el tejido magro al mes de edad.</p> <p>Inclusión: 18-45 años, edad gestacional \geq37 semanas, estancia hospitalaria posparto <3 días, embarazo único.</p> <p>Exclusión: consumo de tabaco, consumo de alcohol (>1 bebida por semana), diabetes preexistente, diabetes gestacional, defectos de nacimiento congénitos conocidos o presuntos.</p> <p>iDXA \rightarrow composición corporal-</p> | <p>La LM madura (1 mes) resultante se analizó utilizando kits de inmunoensayo disponibles comercialmente para insulina, leptina, IL-6 y TNF-α.</p> <p>El único factor de confusión potencial que se encontró asociado con cualquier variable de la leche materna fue el IMC pregestacional materno, se asoció positivamente con la masa de grasa infantil (r = 0,53, p = 0,01) y masa magra (r = 0,52, p = 0,02)</p> <p>El TNF-α de la LM se asoció negativamente con la masa magra infantil (r= -0.50, p = 0.05), y la IL-6 se asoció negativamente con puntaje Z de P/T infantil (r= -0.62, p= 0.01), puntaje Z IMC/E (r ajustada= -0.70, p= 0.003), aumento de peso desde el nacimiento hasta 1 mes (r=-0.58, p = 0.02), porcentaje de grasa (r= -0.55, p = 0.03) y masa grasa (r= -0.61, p = 0.009), pero no se asoció significativamente con la masa magra.</p> <p>*ajustados a IMC pregestacional</p> <p>IL-6 \rightarrow 3.8 \pm 5.3 pg/mL. TNF-a \rightarrow 4.7 \pm 4.9 pg/mL</p> | <p>Tamaño muestra</p> <p>Leche madura</p> <p>IMC pregestacional, no considera ganancia de peso</p> |

| | | | | |
|---|--|---|--|--|
| <p>Maternal weight and excessive weight gain during pregnancy modify the immunomodulatory potential of breast milk</p> <p>María Carmen Collado, Kirsi Iaitinen, seppo salminen and erika Isolauri</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>n= 56 (34 IMC \leq25 kg/m², 22 IMC >25 kg/m²)</p> | <p>Analizar la relación entre las citoquinas y la microbiota y explorar las influencias maternas sobre estas en calostro, al mes y los 6 meses.</p> | <p>Las citocinas IFN-γ, TNF-α, IL-10, IL-6, IL-4 e IL-2 en el suero se midieron en LM madura y calostros mediante un ensayo de citometría de flujo multiplexado, utilizando un kit comercial de citocinas humanas.</p> <p>Las bacterias del grupo Streptococcus se relacionaron positivamente con las concentraciones de IFN-γ (P = 0,001), factor de necrosis tumoral (TNF) -α (P = 0,020) e IL10 (P = 0,001). Además, la citocina proinflamatoria IL6 se vinculó con niveles más altos del grupo Staphylococcus (P = 0.03) en el calostro.</p> <p>IL-6 \rightarrow Calostro: NP 62.86 pg/mL, SP/OB 81.85 pg/mL (0.77 (0.41-1.42) p=0.38)</p> <p>TNF-α \rightarrow Calostro: NP 9.87 pg/mL, SP/OB 11.41 (0.86 (0.54-1.38) p=0.56)</p> | <p>Tamaño muestra en calostro (23 y 20 de cada grupo)</p> <p>Falta estandarización toma de las muestras</p> <p>Se une el grupo de sobrepeso con obesidad</p> |
| <p>The impact of maternal obesity and breast milk inflammation on developmental programming of infant growth</p> <p>Samantha Enstad, Sukhinder Cheema, Raymond Thomas, Raina N. Fichorova, Camilia R. Martin, Perrie O'Tierney-Ginn, Carol L. Wagner, Sarbattama Sen (2020)</p> | <p>Observacional, cohorte (secundario)</p> <p>n= 40 (20 IMC<30 kg/m², 20 IMC>30 kg/m²)</p> | <p>Evaluar la asociación entre el IMC materno y omega-6: omega-3, leptina, IL-8, IL-6, IL-1β y malondialdehído al mes y a los 4 meses. Luego examinamos la asociación entre marcadores de BM en la trayectoria de crecimiento infantil desde el nacimiento hasta los siete meses.</p> | <p>LM madura (al mes y a los 4 meses) las citocinas se midieron usando electro quimioluminiscencia en el Meso Scale Discovery.</p> <p>Se ajustaron los valores de IL por raza materna y días posparto en el momento de la recolección de LM.</p> <p>El IMC materno no se asoció con IL-8, IL-6, IL-1β o MDA en LM al mes o a los 4 meses. Los bebés expuestos a altas citocinas de BM tenían puntuaciones z de peso más altas al nacer con una disminución inicial durante los primeros 1-2 meses de vida seguida de un aumento durante los siguientes seis meses en comparación con los bebés expuestos a bajas citocinas de BM (IL- 8 p <0,001; IL-6 p <0,001; IL-1β p = 0,02)</p> | <p>IMC calculado al mes posparto</p> <p>LM madura</p> <p>Se unió el grupo de normopeso con sobrepeso</p> <p>Tamaño de la muestra</p> |
| <p>Maternal pre-pregnancy weight status modifies the influence of PUFAs and inflammatory biomarkers in breastmilk on infant growth</p> <p>Henry Nuss, Abby Altazan, Jovanny Zabaleta, Melinda Sothern, Leanne Redman. (2019)</p> | <p>Observacional, cohorte prospectiva</p> <p>n= 33 (IMC<25 n=18, IMC >25 n=15)</p> | <p>Evaluar las interrelaciones entre las citocinas proinflamatorias (TNF-α, IL-6), las hormonas (insulina, leptina) y los PUFA (n-6, n-3) en la sangre y la leche materna. en el posparto temprano entre mujeres con IMC normal y con IMC >25 antes del embarazo para determinar si estos componentes se correlacionan con las medidas de crecimiento infantil a la edad de 4 a 8 semanas.</p> <p>Inclusión: Habla inglesa, de 18 a 40 años, embarazada y con un feto único viable, sin diagnóstico de diabetes gestacional, y con la intención de amamantar o proporcionar leche materna a su bebé durante al menos los primeros 2 meses de edad. Las mujeres se clasificaron según el IMC antes del embarazo (auto reportado).</p> | <p>Se midieron TNF-α e IL-6 en suero y suero de leche materna por duplicado usando kits de inmunoensayo disponibles comercialmente.</p> <p>El TNF-α fue significativamente menor en la leche materna en comparación con el suero (0,8 \pm 0,1 pg / ml frente a 0,9 \pm 0,1 pg / ml, p = 0,03). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la insulina, TNF-α e IL-6 por grupo de IMC antes del embarazo. Ningún PUFA individual se correlacionó significativamente con la insulina, TNF-α e IL-6.</p> <p>Los biomarcadores de la leche materna se correlacionaron negativamente con las medidas de crecimiento del lactante excepto el TNFα, que se correlacionó positivamente con el peso del lactante y el% de masa grasa (R2 = 0,47, p <0,001).</p> <p>Leche madura (4-8 semanas): IL-6 \rightarrow 0.82 \pm 0.36 pg/mL (IMC<25) y 0.74 \pm 0.22 pg/mL (IMC>25), p = 0.42 TNF-a \rightarrow 0.84 \pm 0.08 pg/mL (IMC<25) y 1.52 \pm 0.46 pg/mL (IMC>25), p = 0.40</p> | <p>Tamaño de la muestra</p> <p>Clasifica sólo dos grupos uniendo sobrepeso y obesidad.</p> <p>Muestra de leche madura.</p> |

Anexo 5. Consentimiento informado



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

“Asociación de los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) en el calostro humano con la composición corporal materna”

Lugar y Fecha: San Luis Potosí, S.L.P. A ____ De ____ Del ____

Nº de folio: _____

Estimada _____.

Se le invita a participar en el estudio de investigación titulado “Asociación de los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) en el calostro humano con la composición corporal materna”, el cual se está realizando en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) a través de la Maestría en Ciencias en Investigación Clínica y en conjunto con el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” y el Hospital del Niño y la Mujer “Dr. Alberto López Hermosa”

Para decidir si desea participar, es necesario que entienda en qué consiste su participación y de qué trata el estudio: cuál es su objetivo, qué procedimiento se realizará, cuáles son sus posibles riesgos, molestias y/o beneficios. En este documento se le dará información detallada acerca de lo anterior, siéntase con la libertad de preguntar, en cualquier momento, si tiene dudas o alguna otra inquietud acerca del procedimiento para ayudarle a resolverlas. Una vez que la información sea clara, se le preguntará si desea participar en el estudio y usted decidirá, bajo ninguna presión o intimidación, si desea firmar este documento.

Este proyecto de investigación tiene como objetivo el “determinar la asociación entre los niveles de citocinas proinflamatorias (pequeñas moléculas que ayudan a controlar el crecimiento y la actividad de otras células) presentes en el calostro (la leche materna producida hasta las 72 horas después del parto) humano y la composición corporal materna (es decir, la cantidad de grasa corporal, músculo y agua que tiene tu cuerpo).”
Información para el paciente.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce que la leche materna es la forma ideal de proporcionar a los bebés los nutrientes que necesitan para un crecimiento saludable. Recomienda la lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses de edad, a partir de esta edad se seguirá ofreciendo, junto con otros alimentos, hasta alcanzar los 2 años. Además de aportar la cantidad de nutrientes (proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales) adecuados para favorecer el crecimiento, también tiene varios compuestos bioactivos, es decir, elementos ayudan al sistema inmune (defensas para no enfermarse) del bebé. Dentro de estos se encuentran las citocinas que son pequeñas proteínas que ayudan a las células a comunicarse entre sí, y así poder regular algunas de funciones.

Se sabe que la composición de la leche materna es cambiante y difiere en la misma madre durante el día y en las etapas de lactancia. También es diferente de una madre a otra, sin importar que los bebés tengan la misma edad. Se han estudiado además otros factores que pueden influir en su composición como: la dieta, la información genética y las características físicas de la madre.

Se ha demostrado que algunas características como el peso corporal materno influye en la concentración de ciertas hormonas en la leche materna. Por eso, este estudio buscará si la composición corporal (cantidad de músculo, agua y grasa corporal) influye en el total de citocinas (pequeñas proteínas) que se encuentran en el calostro, por lo que su participación es importante.

Procedimiento

Usted ha sido invitada a participar por cumplir con las siguientes características:

- Tiene entre 18 y 35 años
- No padece de enfermedades crónicas previas, ni presentó enfermedades asociadas con el embarazo.
- Su parto fue a término (es decir, ≥ 37 y <42 semanas de gestación)
- Su hijo(a) es un(a) recién nacido(a) sano(a)

Si acepta participar, estos serán los pasos que se llevarán a cabo:

1. Se tomarán datos de su expediente clínico: semanas de gestación, edad, antecedentes personales patológicos, medicamentos, evaluación médica del recién nacido (apgar al minuto, a los cinco minutos (calificación que se da al bebé al nacer), peso y longitud), número de embarazos.
2. Se medirá su talla y peso corporal utilizando una báscula, cinta y un estadímetro.
3. Aquí en su cama, se le realizará una bioimpedancia eléctrica (prueba que sirve para determinar la composición del cuerpo). El procedimiento consiste en colocar unos electrodos (unas “estampitas”) en la mano y pierna, se conectan unos cables (por donde pasa una corriente eléctrica, la cual no se percibe, ni causará ninguna molestia) y se registran los valores que nos muestra el equipo.
4. Posteriormente aquí mismo, se le enseñará el proceso de extracción para obtener una muestra de calostro (aproximadamente 2 ml, no más de una cucharadita). La extracción de leche materna la realizará mediante extracción manual, este procedimiento podría causar un poco de molestia.
5. Finalmente, la muestra de leche será analizada para determinar la cantidad de citocinas como las interleucina- 1β , TNF-a, e interleucina 6 (pequeñas moléculas) que contiene.

El análisis de las muestras será realizado en el laboratorio de Biología Molecular y Epigenética de la Facultad de Medicina de la UASLP, una vez que concluya la recolección. Su muestra de leche no contendrá ninguna información personal y se codificará con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal, las muestras biológicas son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y, por esta razón su muestra no podrá serle devuelta.

Beneficios

Usted no se beneficiará de manera inmediata al participar en este estudio, sin embargo, estará contribuyendo a entender si existe una relación entre la cantidad de citocinas en el calostro y la composición corporal materna. Lo cual puede ser utilizado para futuras investigaciones.

Riesgos y molestias

Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son **mínimos**, ya que se realiza un procedimiento poco invasivo y no se interviene en su tratamiento. Si alguna de las preguntas que le realizarán le hicieran sentir incómoda, tiene el derecho de no responder.

No se han reportado efectos secundarios graves como resultado de la toma de muestra de leche materna aunque, en algunas ocasiones, podrían causar cierta molestia en sus senos. En el remoto caso de que sintiera alguna otra molestia generada por la investigación, es necesario notificarla inmediatamente al **investigador principal**, quien se encargará de proporcionarle la atención necesaria, sin ningún costo para usted. Usted **no recibirá ningún pago** por participar en el estudio, pero tampoco este implicará costo alguno.

Confidencialidad

La información personal y médica proporcionada es de **carácter confidencial**. Será utilizada únicamente por el equipo de investigación de este proyecto para analizar los resultados obtenidos y, no estará disponible para ningún otro propósito. Para mantener sus datos anónimos, se le asignará un código con el que únicamente los investigadores que participan en este estudio podrán conocer su identidad. Esta información se conjuntará con la de otros participantes para realizar el presente estudio.

Los resultados de este estudio (anónimos) podrán ser publicados o presentados con fines científicos en revistas, foros o congresos relacionados con el área de la salud.

Anexo 3. Carta de aceptación Hospital del Niño y la Mujer

Revocación del consentimiento informado

San Luis Potosí, S.L.P. A _____

Yo, _____, deseo retirar el consentimiento de participación dado con anterioridad para mi participación en protocolo titulado "***Asociación de los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) en el calostro humano con la composición corporal materna***".

Nombre completo
y firma del participante

Nombre completo
y firma del testigo

E.N.C. María Murguía Vázquez
Investigadora principal

M. en C. Mauricio Pierdant Pérez
Investigador del protocolo

Anexo 6. Aviso de privacidad

En base a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares Capítulo II de los Principios de Protección de Datos Personales artículo 15 y 16 ley publicada en el diario oficial de la federación el 5 de julio de 2010.

Por favor lea cuidadosamente y de forma responsable, la protección de sus datos personales.

Para efecto de recibir todo tipo de notificaciones con respecto a los derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición o revocación contenidos VII, VIII y IX del presente aviso de privacidad, se le proporciona los siguientes datos de contacto:

Título del estudio: “Asociación de los niveles de citocinas proinflamatorias en el calostro con la composición corporal materna”

Investigadores responsables: Dr. Mauricio Pierdant Pérez y E.N.C. María Murguía Vázquez

Teléfono: 444 826 2342 EXT. 6688 **E-mail:** mauricio.pierdant@uaslp.mx y maria-murguia@hotmail.com

Información que se le solicitará:

Su información personal será utilizada con la finalidad de: determinar la asociación los niveles de citocinas proinflamatorias en el calostro con la composición corporal materno, por lo cual se le solicitaran los siguientes datos personales: nombre completo, edad, enfermedades que padece, así como otros datos considerados como sensibles de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales.

Es importante que usted sepa que todo el equipo de investigación que colabora en este estudio se compromete a que todos los datos proporcionados por usted sean tratados bajo medidas de seguridad y garantizando siempre su confidencialidad.

Usted tiene derecho de acceder, rectificar y cancelar sus datos personales, así como de oponerse al manejo de estos o anular el consentimiento que nos haya otorgado para tal fin.

Además del investigador principal, le aclaramos que la información de sus datos personales puede ser compartida y manejada por personas distintas a esta institución, solamente con fines del proyecto de investigación, de ser necesario puede llegar a ser compartida con los Investigadores de este equipo de estudio con la finalidad de difundir algunos de los datos recabados durante la investigación en medios de divulgación científica nacionales o extranjeros, manteniendo siempre anónimos sus datos personales.

Declaración de conformidad: Si usted no manifiesta oposición para que sus datos personales se compartan con las instancias mencionadas, se entenderá que ha otorgado su consentimiento para ello.

Anexo 7. Métodos de evaluación de la composición corporal

Tabla 10. Evaluación antropométrica

| Método | Limitaciones | Ventajas |
|---|--|--|
| IMC | No es un método de evaluación de la composición corporal. No tiene en cuenta la fuente del peso, ya sea de masa magra o grasa (13). | Es una fórmula matemática simple. No requiere de equipo especial (13). |
| Pliegues cutáneos y circunferencias | Desafío para medir el sitio anatómico correcto debido a la expansión y el estiramiento de la piel. Se basa en ecuaciones productoras, sus estudios de validación no incluyen número adecuado de mujeres con obesidad. El grosor de los pliegues suele ser mayor en mujeres con bajo peso que en mujeres con sobrepeso, y mayor en mujeres primíparas (13). | Método no invasivo, utiliza equipo no especializado de bajo costo. Si se mantiene la precisión y la evaluación repetida del grosor de los pliegues cutáneos, puede ser útil en investigación de campo (13). |
| Hidrodensitometría | Equipo no disponible, alto costo. No portable Incomodidad durante la inmersión completa con las fosas nasales ocluidas durante 2-3 min y la dificultad para ejecutar correctamente el protocolo de respiración (13). | Se puede realizar sin riesgo para la mujer embarazada (13). |
| Pletismografía por desplazamiento de aire | No es portátil, equipo caro. Requiere de medición/estimación del volumen de gas torácico, el cual disminuye durante el embarazo. Se requiere ajustar para el tercer trimestre. Se requiere ajuste para la densidad de masa magra en relación con edad gestacional (13). | Alto nivel de seguridad y tolerancia de las participantes. Permite realizar mediciones repetidas. Protocolo es fácil de seguir y corta duración (13). |
| Bioimpedancia eléctrica | Cambios de fluido a lo largo del día que pueden afectar las mediciones. Puede subestimar el volumen total de agua al final del embarazo (32 semanas) La conductividad eléctrica de la corriente está determinada por la cantidad de agua contenida en diferentes tejidos biológicos (13). | Bajo costo, práctica. Portátil (13). |
| Absorciometría dual de rayos X | Emite radiación, por lo que no se puede realizar durante el embarazo. Costo elevado (13). | Estándar de oro en la composición corporal (13). |

Anexo 8. Manual de operaciones

Manual Operativo

Protocolo titulado “Asociación de los niveles de las citocinas proinflamatorias: IL-1 β , IL-6 y TNF- α en el calostro humano con la composición corporal materna”.

Equipos:

- Analizador de composición corporal RJL, modelo Quantum X
- Estadímetro SECA, modelo 216
- Báscula SECA modelo 310
- Citómetro de flujo BD FACSCalibur®

Proceso:

El proceso de la obtención del consentimiento informado, muestra y mediciones es realizado por el MPSS Héctor Segovia y la investigadora principal. Los pasos que se llevan a cabo son los siguientes:

A. Invitación y firma del consentimiento informado

Lo primero que se hace es revisar el censo diario, y detectar a las posibles participantes que hayan tenido un parto fisiológico y sin antecedentes patológicos. Posteriormente, nos dirigimos con ellas y se abordan los criterios de selección de pacientes (ver apartado 6.4), en caso de cumplir con todos, se les invita a participar. Se aborda el consentimiento informado y finalmente, se obtiene la firma de quienes aceptan participar.

B. Recolección de datos y toma de medidas

La recolección de los datos se realiza en la mañana dentro de las primeras 24 horas posparto. En este paso obtenemos los datos de interés utilizando la hoja de recolección y se realizan las mediciones de talla, peso y composición corporal de la madre.

Previo a la medición siempre se informa a la participante sobre las medidas que se tomarán, cómo se realizarán y se le consiente a la participante para poder proceder. Estas tomas son realizadas conforme los estándares para la evaluación de antropometría (55).

- **Peso materno:** El peso se toma con la menor cantidad de ropa posible. Se comprueba que la lectura de la báscula sea cero, luego la participante se coloca en el centro de la báscula sin apoyo y con el peso distribuido uniformemente en ambos pies. La cabeza está levantada y los ojos mirando directamente al frente (55).

- **Talla materna:** Para la toma de la talla se le solicita a la participante que se pare con los pies juntos y los talones, las nalgas y la parte superior de la espalda tocando la escala. La cabeza se coloca en plano de Frankfort, no es necesario que toque la escala. El plano de Frankfort se consigue cuando el Orbitale (borde inferior de la cuenca del ojo) está en el mismo plano horizontal que el Tragion (la muesca superior al trago de la oreja). Se alinea el vértex, el punto más alto del cráneo y el registrador coloca la cabecera firmemente hacia abajo en el vértex, comprimiendo el cabello tanto como sea posible (55).
- **Composición corporal:** La composición corporal se realiza utilizando un equipo de bioimpedancia eléctrica con frecuencia única (50 kHz, RJL, modelo Quantum X) con la técnica de equipo estándar: las participantes se colocan en una superficie no conductora en posición decúbito supino con los brazos a 30 grados del cuerpo y las piernas sin tocarse. Se limpia con alcohol los sitios para colocar los electrodos en las mano y pies descalzos (como se muestra en la imagen 1) y se conectan los cables (rojo proximal, negro distal). Se enciende el analizador y se registrarán los valores de R y Xc. Posteriormente se retiran los electrodos y cables.

Todas las mediciones son realizadas utilizando el mismo dispositivo y se calibra mediante una resistencia de prueba con un valor conocido de 495–505 ohmios de resistencia para garantizar la precisión de las mediciones.

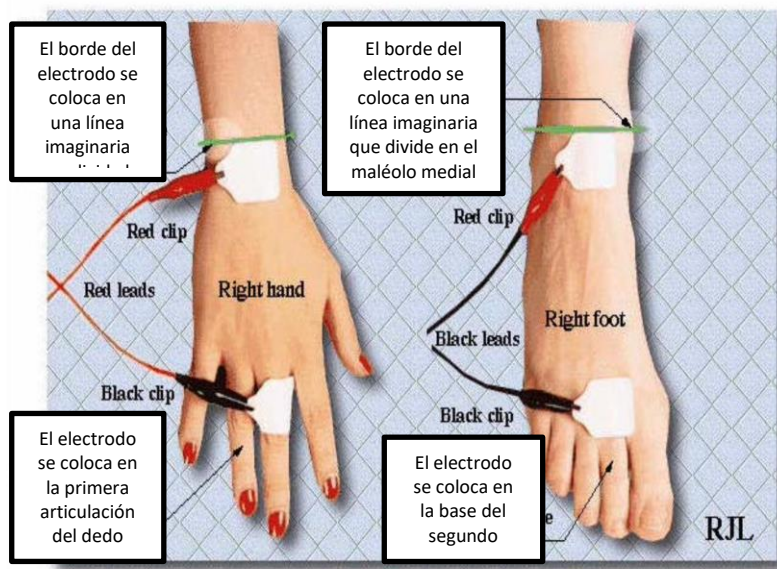


Imagen 1. Colocación electrodos

C. Toma de muestra

Condiciones para la toma de muestra: Muestra post-pandrial 30 a 60 min posteriores al desayuno, en el intervalo de dos tomas de leche, dentro de las primeras 24 horas posparto, horario entre las 9 y 11 de la mañana.

Las muestras de calostro fueron tomadas por la investigadora principal y el MPSS Héctor Segovia, de la siguiente forma:

- Antes de empezar se brindaban instrucciones verbales sobre el procedimiento que se realizaría para la extracción de la muestra. Las muestras de leche se recolectan en tubos de 50 mL (volumen de la muestra esperado 3-5 mL).
 - 1) Previo a la recolección se le pide a la participante que limpie el seno del centro a la periferia con una gasa con agua estéril para minimizar la entrada de bacterias de la piel en la muestra.
 - 2) Se le pide a la participante que se coloque los guantes proporcionados y posteriormente, comience con los ejercicios de estimulación con una duración de 5 a 10 minutos.

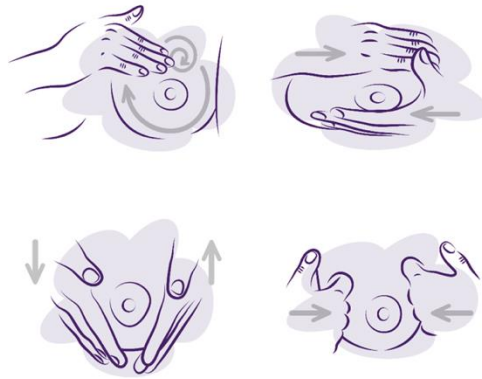


Imagen 2. Estimulación para la producción de LM

- 3) Al momento de observar la salida de calostro, se le solicita a la participante que empiece con la técnica de extracción y se aboca el tubo de recolección sobre la región areolar, extrayéndose hasta que no se pueda obtener más muestra.

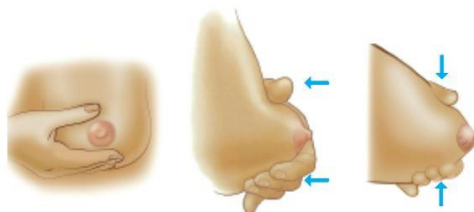


Imagen 3. Técnica de extracción de LM

- 4) Se repiten los pasos B y C en el otro seno, con el objetivo de que la muestra provenga de ambos.
- 5) Se transportan las muestras en una hielera con gel refrigerante (previamente congelado a -20°C), manteniendo cadena fría, hasta el laboratorio de biología molecular y epigenética de la Facultad de Medicina.
- 6) Se divide la muestra en alícuotas de 500 ul, agitándose durante el pipeteo para asegurar la uniformidad de la muestra, depositándolas en tubos estériles de 1.5 mL.
- 7) Las muestras se congelan y se almacenan a -80°C para su posterior análisis.

D. Manejo de la muestra

Las muestras se transportarán en recipientes para mantener cadena fría desde el hospital hasta el laboratorio de biología molecular y epigenética de la facultad de medicina de la UASLP. Lugar donde se almacenarán para su posterior análisis. Las muestras de calostro serán transportadas por la investigadora principal.

Análisis de vectores de bioimpedancia

Para la clasificación de las participantes en cada grupo (normopeso, sobrepeso y obesidad) se realiza de la siguiente forma:

- a) Se introducen los datos al programa de Excel, el cual cuenta con el Macro habilitado para graficar sobre las elipses de tolerancia para la población de referencia (17).
- b) El programa estandariza la resistencia y la reactancia por la talla y gráfica a cada participante (ver figura 5).
- c) Se clasifica a la participante de acuerdo con el percentil donde se encuentra: grupo 1: normopeso (dentro de las elipses del p50 al p75; grupo 2: sobrepeso (entre la elipse del p75 y la del p95, del lado izquierdo); grupo 3, obesidad (fuera de la elipse del p95, del lado izquierdo).

Criterios de exclusión BIVA:

- Encontrarse fuera de la elipse p75 dentro los cuadrantes delgadez y caquexia (es decir, lado derecho del eje x)

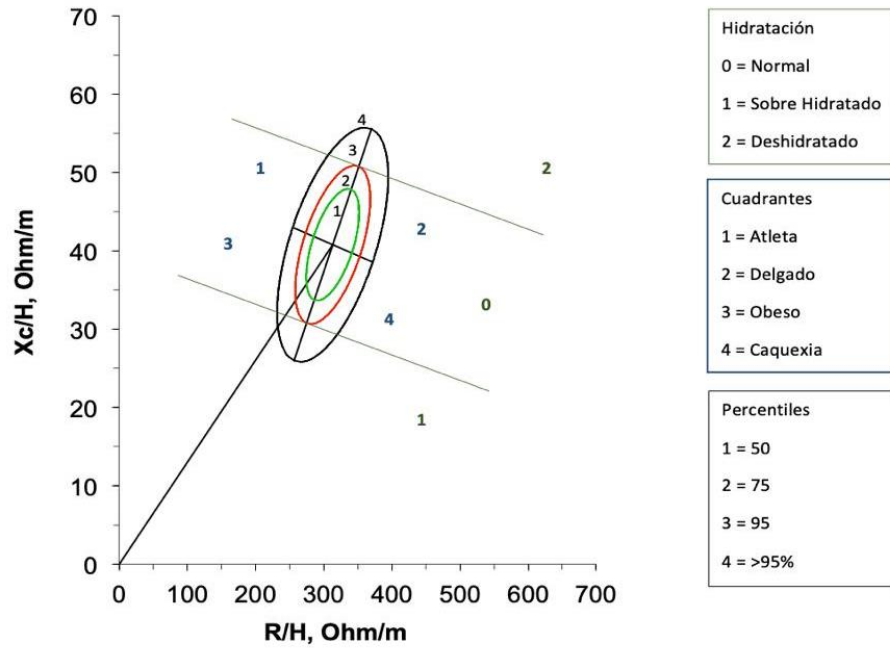


Figura 8. Gráfica elipses de tolerancia

Flujograma activo

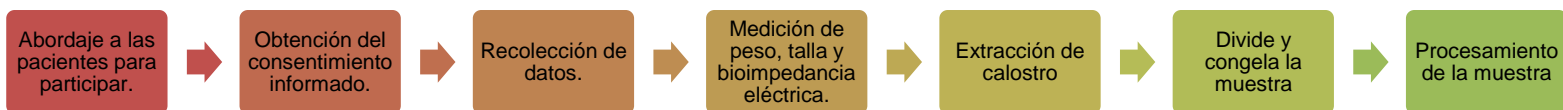


Figura 9. Flujograma activo

Hoja de recolección de datos

Fecha: __/__/__

Muestra: _____

Hoja de recolección de datos

| |
|-------------------------------------|
| Ficha Identificación: Nombre: _____ |
| Folio: _____ |

Fecha de nacimiento: _____ Edad de la madre: _____

Grupo: normopeso/ sobrepeso/ obesidad/Diabetes

| |
|-----------------------|
| Antecedentes Maternos |
|-----------------------|

Gesta: _____ Parto: _____ Aborto: _____ Cesárea: _____ Hijos vivos: _____ SDG: _____

Peso pregestacional: _____ Peso actual: _____ Talla: _____

CMB: _____ Resistencia: _____ Reactancia: _____.

Enfermedades maternas: 1. DM 2.HTA 3. ERC 4. Hipotiroidismo 5. Hipertiroidismo
6. Enfermedades autoinmunes 7. Asma

Enfermedades durante embarazo: 1. Preeclampsia 2. Diabetes Gestacional
3. Enfermedad Autoinmune 5. Otra: _____

Toxicomanías: Alcohol durante el embarazo (# bebidas a la semana): _____
consumo de drogas (# veces al mes): _____ Tabaco (# cigarros a la semana): _____

Medicamentos: _____ ¿Cuáles? _____

Vacuna SARS-CoV-2: _____ Dosis: _____ Fecha: _____ Marca: _____

Laboratorios Disponibles:

HB: _____ HTO: _____ LEUCOS: _____ PLAQ: _____.

Cr: _____ Urea: _____ Gluc: _____.

| |
|-------------------------|
| Antecedentes neonatales |
|-------------------------|

FN: __/__/__ Hora: _____ 1. Parto eutócico _____ 2. Cesárea _____

Apgar (1min) _____ 5min _____ sexo: 1. masculino 2. Femenino 3. Indiferenciado.

Semanas de gestación: _____ Reanimación neonatal: _____

Peso: _____ Longitud: _____

Determinación:

Citocinas: IL-1 β : _____ TNF: _____ IL-6: _____.

Grupo de investigación

- **M. en C. Mauricio Pierdant Pérez**
 - Cédula Médico Cirujano y Partero 2614290
 - Cédula de Especialidad en Pediatría 3176192
 - Cédula de Maestro en Ciencias en Investigación Clínica 5769402

- **D. en C. Mariana Salgado Bustamante**
 - Cédula Químico Farmacobiólogo 3870315
 - Cédula Maestra en Ciencias Químicas 4817444
 - Cédula Doctora en Ciencias Biomédicas Básicas 6453289

- **M. en C. María Victoria Lima Rogel**
 - Cédula de Médico Cirujano 0435586
 - Cédula de Especialidad en Neonatología 3168236
 - Cédula de Maestra en Ciencias en Biología Molecular 09680413

- **E.N.C. María Murguía Vázquez**
 - Cédula de Licenciatura en Nutrición 10845187
 - Cédula de Especialidad en Nutriología Clínica 12049117

- **MPSS. Héctor Segovia Hernández**
 - Médico Pasante de Servicio Social

Presupuesto calendarizado

Tabla 11. Presupuesto

| Etapa | Actividades | Fechas | Presupuesto |
|---------|---|--------------------------------|--|
| Etapa 1 | Elaboración del protocolo, Presentación ante el comité académico de la MCIC, Presentación ante el comité de ética del instituto, Recolección de datos | Marzo 2020- Septiembre 2021 | \$ 20, 000.00 Descripción: Material para toma de muestras, reactivos y consumibles para estandarización y almacenamiento de las muestras. |
| Etapa 2 | Etapa analítica: Recolección de los datos, Interpretación de los datos obtenidos, procesamiento de las muestras y análisis estadístico de los datos | Febrero 2021 – Enero 2022 | \$ 80, 000.00 Descripción: Material, reactivos y consumibles para la determinación de las citocinas en las muestras biológicas. |
| Etapa 3 | Escritura de la tesis | Enero-Marzo 2022 | \$3,000.00 Descripción: Impresión y publicación de la tesis |

Anexo 9. Kit citocinas

https://resources.rndsystems.com/pdfs/datasheets/lxsahm.pdf?v=20220522&_ga=2.59388525.1199433732.1653260372-2120940914.1651809795

Luminex[®] Discovery Assay

Human Premixed Multi-Analyte Kit

Catalog Number LXSAHM

For the simultaneous detection of multiple human biomarkers in cell culture supernates, serum, and plasma.

**This package insert must be read in its entirety before using this product.
For research use only. Not for use in diagnostic procedures.**

Human Magnetic Luminex® Assays
Premixed Multiplex
Certificate of Analysis

Kit Catalog Number **LXSAHM-07**

Kit Lot Number **L138032**

10X Microparticle Mix Lot Number **1611401**

Biotin Antibody Mix Lot Number **1611402**

| Analyte | Region | Standard Value pg/mL |
|------------------|--------|----------------------|
| IL-1 beta/IL-1F2 | 28 | 4,420 |
| IL-6 | 13 | 1,070 |
| IL-17/IL-17A | 42 | 3,270 |
| TNF-alpha | 12 | 1,830 |

Standard Cocktail Lot Information

| | Lot No. | Recon Vol. |
|------------|----------------|-----------------|
| Standard A | P233899 | 0.250 mL |
| Standard B | P230761 | 0.250 mL |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

| Analyte | Region | Standard Value pg/mL |
|------------|--------|----------------------|
| IL-4 | 39 | 3,770 |
| IL-8/CXCL8 | 18 | 1,060 |
| MMP-1 | 19 | 10,410 |

This Premixed Multiplex was tested and found to perform within specifications.

Approved by: *Diane R. Wotta* Diane R. Wotta, Ph.D.
Sr. Director, Quality and Regulatory Affairs

Date: February 2, 2021

753436

Human Magnetic Luminex® Assays

Premixed Multiplex
Kit Lot Number: L138032

This kit contains the following analytes:

- | | |
|-------------------------|-------------------|
| IL-1 beta/IL-1F2 (BR28) | IL-4 (BR39) |
| IL-6 (BR13) | IL-8/CXCL8 (BR18) |
| IL-17/IL-17A (BR42) | MMP-1 (BR19) |
| TNF-alpha (BR12) | |

| | |
|--|--|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

| Standard | Y-axis Value | Position | Analyte |
|----------|-----------------|----------|------------------|
| | 2.170 | 28 | IL-1 beta/IL-1F2 |
| | 1.700 | 13 | IL-6 |
| | 10.410 | 42 | IL-17/IL-17A |
| | | | TNF-alpha |



| Standard | Y-axis Value | Position | Analyte |
|----------|-----------------|----------|------------|
| | 2.170 | 39 | IL-4 |
| | 1.700 | 18 | IL-8/CXCL8 |
| | 2.170 | 19 | MMP-1 |
| | 1.700 | | |

Human Magnetic Luminex® Assays
Suggested Sample Dilutions

(minimum 1:2 required for all sample types)

| <u>Analyte</u> | <u>Serum</u> | <u>Plasma</u> | <u>Analyte</u> | <u>Serum</u> | <u>Plasma</u> |
|-------------------------|--------------|---------------|-------------------|--------------|---------------|
| IL-1 beta/IL-1F2 (BR28) | 1:2 | 1:2 | IL-4 (BR39) | 1:2 | 1:2 |
| IL-6 (BR13) | 1:2 | 1:2 | IL-8/CXCL8 (BR18) | 1:2 | 1:2 |
| IL-17/IL-17A (BR42) | 1:2 | 1:2 | MMP-1 (BR19) | 1:2 | 1:2 |
| TNF-alpha (BR12) | 1:2 | 1:2 | | | |

Approved by: *[Signature]*
 Date: February 2, 2021
 This Premixed Multiplex was tested and found to perform within specifications.


 Global bio-techne.com info@bio-techne.com techsupport@bio-techne.com TEL +1 612 379 2956
 USA TEL 800 343 7475 Canada TEL 855 668 8722 China TEL +86 (21) 52380373
 Europe | Middle East | Africa TEL +44 (0)1235 529449
 For Research Use or Further Manufacturing Purposes Only