

TECNOLÓGICO DE MONTERREY



“Variabilidad en la concentración de Lactoferrina presente en leche humana durante la lactancia, en un Hospital Regional de Alta Especialidad Materno Infantil del Noreste de México”

presentada por

Dra. Josselyn Hernández Pérez

para obtener el grado de

Especialidad en Pediatría

Programa Multicéntrico de Especialidades Médicas
Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud - Secretaría de Salud del Estado
de Nuevo León

Monterrey, Nuevo León México, 04 de diciembre 2020.

Director de tesis:
Dr. César Adrián Martínez Longoria

Codirectores de tesis:
Dr. José Ascensión Hernández
Dra. Rosa del Carmen López Sánchez

Dedicatoria

A mis padres y hermana que creyeron en mí, siendo siempre aliento e inspiración constante, enseñándome que todo se hace realidad con esfuerzo, constancia y dedicación.

Por demostrarme que no importa cuán difícil sea el camino para lograr un sueño, su realización depende del coraje, valentía y empeño que tengas por conseguirlo.

Gracias por enseñarme que la vida, no es cuestión de suerte, sino de actitud.

A mi hermana, por su cariño, apoyo incondicional constante y comprensión.

A mi esposo, por el amor que me demuestra todos los días con cada una de sus acciones, participando a mi lado en la construcción de mis sueños, compartiendo mis alegrías, mis tristezas, mis éxitos y fracasos. Recordándome en los momentos de flaqueza, todo el camino que he recorrido para estar aquí, brindándome siempre su confianza, comprensión y apoyo invaluable, creyendo siempre en mí.

A Valentina, mi hija, que desde su llegada me ha enseñado a superar mis miedos. Demostrándome que a su lado nada es imposible, inspirándome siempre a buscar la mejor versión de mí.

Agradecimientos

A mis asesores de tesis, Dr. César Martínez Longoria, Dr. José Ascensión Hernández Hernández, Dra. Rosa del Carmen López Sánchez y Dr. Adrián Carlos Patton Leal.

Porque sin ustedes, no habría sido posible la realización de este proyecto.

Gracias por compartir conmigo este sueño, por confiar y creer en mí, por su valioso tiempo, sus experiencias, consejos y conocimientos.

Porque a lo largo del camino fueron no solo maestros, sino inspiración.

Porque a través de su tutela, sembraron en mí la curiosidad de la investigación científica.

Porque con su labor diaria, permitieron ver tangible este proyecto, el cual aporta evidencia científica para la mejora social.

Glosario

HRMIAE	Hospital Regional Materno Infantil de Alta especialidad.
BLH	Banco de leche humana
OMS	Organización Mundial de la Salud
UNICEF	Fondo de las naciones Unidas para la Infancia.
kDa	Kilodaltons
Lf	Lactoferrina
Fe	Hierro
UPLC/MS	Ultra performance liquid chromatography
μ L	Micromoles
Xg	Fuerza centrifuga
MDD	Dosis mínima detectable calculada
Pg / mL.	Picogramos por mililitro.
mOsm	Miliosmoles

Tabla de contenido

Resumen	9
Capítulo 1. Planteamiento del problema	11
1.1 Antecedentes	11
1.2 Planteamiento del problema	16
1.3 Objetivos de la investigación	17
1.4 Justificación	18
1.5 Alcance del Estudio	19
Capítulo 2. Marco Teórico	20
Capítulo 3. Metodología	32
3.1 Diseño del estudio	32
3.2 Clasificación del Estudio.....	32
3.4 Tipo de Investigación.....	33
3.4 En relación con el tiempo.....	33
3.5 Clasificación de la investigación.....	33
3.7 Tipo de Análisis	34
3.8 Población	34
3.9 Métodos de selección de los participantes.	34
3.10 Criterios de inclusión y exclusión de los participantes	35
3.10.1 Criterios de inclusión	35
3.10.2 Criterios de exclusión	35
3.11 Materiales	35
3.12 Técnica	37

3.13 Instrumentos de medición	37
3.14 Lugar donde se realizó el estudio	39
3.15 Variables, definición operacional y escala de medición.....	39
3.16 Técnica	47
3.17 Análisis estadístico	51
Capítulo 4. Resultados.....	52
Capítulo 5. Análisis y discusión	62
Capítulo 6. Conclusión	68
Referencias	70
Curriculum vitae	77

Resumen

Antecedentes

La leche materna es un producto vivo de gran complejidad biológica, que cumple todos los requerimientos nutricionales del recién nacido (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018). Por sus cualidades protectoras, inmunomoduladoras y nutritivas, representa el estándar de oro de alimentación y nutrición de todo recién nacido y lactante (Moro et al., 2019).

Sin embargo, ésta posee una gran variabilidad de los elementos que la integran en sus diferentes etapas, con el objetivo de poder adaptarse a los requerimientos nutricionales e inmunológicos que le demanda el lactante en cada una de sus etapas de crecimiento y desarrollo.

Problema

La búsqueda de las distintas variables que intervienen en la variabilidad de la concentración de Lactoferrina presente en la leche humana, a través de sus diversas etapas. Así como la bioactividad que posee en la inhibición del crecimiento de bacterias.

Resultados

Se incluyeron 77 muestras de leche materna. Se encontró una mayor cantidad de lactoferrina en el calostro con una media de 5.4 ± 0.89 g/L. La leche de transición presentaba al menos un promedio de 2.9 ± 0.6 g/L y la leche madura 1.7 ± 0.2 g/L de Lactoferrina. No se encontraron variables antropométricas que influyeran en la concentración de lactoferrina.

Conclusiones

La concentración de lactoferrina presenta variaciones de acuerdo con el estadio de leche materna, con una mayor proporción en los primeros días de producción.

Capítulo 1. Planteamiento del problema

1.1 Antecedentes

La leche materna, es un producto vivo de gran complejidad biológica, fuente ideal de nutrimentos, que cumple todos los requerimientos nutricionales del recién nacido (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018). Por sus cualidades protectoras, inmunomoduladoras y nutritivas, representa el estándar de oro de alimentación y nutrición de todo recién nacido y lactante (Moro et al., 2019).

Los compuestos bioactivos que la conforman y los efectos biológicos que exhibe cada uno de sus elementos, han sido objeto de diversos estudios experimentales que han permitido documentar las propiedades fisicoquímicas, antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales, antimicrobianas e inmunomoduladoras que posee.

Hoy en día, ha despertado gran interés, el estudio de una glicoproteína monomérica, de unión al hierro, perteneciente a la familia de las transferrinas, lactoferrina (Moradian et al., 2014), que por su mecanismo de acción participa en una amplia gama de funciones biológicas, que le confieren beneficios inmunoprotectores y cuyas aplicaciones resultan prometedoras no solo en la prevención sino en el tratamiento de enfermedades del recién nacido y el lactante (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Se ha demostrado que la leche materna posee una gran variabilidad de los elementos que la integran en sus diferentes etapas (Moro et al., 2019). Con el objetivo de poder adaptarse a los requerimientos nutricionales e inmunológicos que le demanda el lactante en cada una de sus fases de crecimiento y desarrollo.

En este ensayo clínico, se buscará documentar los cambios dinámicos que presenta la concentración de Lactoferrina en la leche durante las diversas fases de la lactancia en nuestra población (Woodman et al., 2018). Analizando de manera adicional, la influencia positiva o negativa que diversos factores maternos y perinatales ejercen sobre su biodisponibilidad y concentración (Aguado et al., 2012).

En base a lo anterior, destacando por su importancia, un estudio realizado en una población China, por el autor Zheyu Yang, en el año 2018, expuso como objetivo del trabajo de investigación el documentar los cambios dinámicos que posee la Lactoferrina a lo largo de la lactancia, y la búsqueda de factores asociados a la variación en su concentración en una población China, a través del análisis y medición de Lactoferrina humana en muestras de leche materna de 6481 mujeres lactantes sanas de diversas regiones geográficas de China.

Documentando que las concentraciones de Lf en leche materna cambian de manera dinámica durante las diversas etapas de la lactancia, mostrando concentraciones significativamente mayores en la etapa de calostro, disminuyendo de manera considerable al final del primer mes de lactancia, para alcanzar posteriormente una estabilidad relativa (Yang et al., 2018). Asociación la cual guarda relación directa con el rápido desarrollo que demanda la inmadurez del sistema inmune y digestivo del recién nacido (Salamanca et al., 2019).

De igual manera se documentó la presencia de mayores tasas de concentración en leche de madres con recién nacidos pretérmino durante todo el curso de la lactancia, respecto a leche de madres a término (Yang et al., 2018). Hecho que resalta la necesidad

que posee el prematuro de mayores concentraciones, que le confieran protección inmunológica para hacer frente a su mayor incidencia de morbimortalidad e inmadurez (Aguilar et al., 2016).

Otra revisión sistemática, titulada “Factores que afectan la concentración de lactoferrina en la leche humana: ¿cuánto sabemos?”, llevada a cabo en el año 2017, por el autor Aasith Villavicencio. Documentó un metaanálisis de la literatura, que incluyó 70 artículos de divulgación científica, acerca de los cambios longitudinales que posee la concentración de LF en la leche de madres de todo el mundo y los factores asociados en su expresión.

Investigación clínica de gran contribución científica que por su multiculturalidad permitió un abordaje sistemático e integral de la evidencia clínica existente hasta el día de hoy. A través de la evaluación de los principales factores intrínsecos y extrínsecos implicados en la variabilidad de su concentración, su eficacia y el prometedor efecto que posee en la prevención y reducción de la morbimortalidad infantil.

De acuerdo con dicho trabajo, la etapa de la lactancia es el factor que más afecta la concentración de Lf. Documentando la concentración más alta de lactoferrina en el calostro, y una reducción del 50% en su concentración durante los primeros 5 días de lactancia para posteriormente presentar un establecimiento casi constante en sus niveles (Villavicencio et al., 2017).

No se probó una asociación existente entre la variabilidad de su concentración y la distribución geográfica, sin embargo, reitera la necesidad de un mayor número de ensayos clínicos que evalúen la asociación de su expresión con otros factores tales como: la raza, la etnia, el estado socioeconómico y/o el estado nutricional materno (Villavicencio et al., 2017).

La búsqueda de factores asociados al estado nutricional materno, han permitido el desarrollo de múltiples investigaciones, las cuales han determinado hasta el día de hoy, que no existe evidencia clara que documente el efecto que ejercen algunas variables (IMC, peso, talla, edad, paridad, niveles de albumina y/o hemoglobina sérica) sobre las concentraciones de los distintos elementos que constituyen la leche materna, entre ellos, la lactoferrina (Yang et al., 2018).

Otra investigación realizada en Australia, por el científico Hassiotou (2013), documentó la respuesta específica que los diferentes factores inmunes presentes en la leche desarrollan frente al curso de diversas infecciones maternas. A través de la medición de diversos elementos bioactivos presentes en la leche, implicados en la regulación de la respuesta inflamatoria frente a la infección aguda, proceso encargado de conferir apoyo inmunológico adicional al bebé. Documentándose un aumento significativo en la presencia de leucocitos, inmunoglobulinas y algunos componentes del sistema inmune innato (lactoferrina), durante periodos de infección materna con el fin de mejorar la capacidad inmune de lactante frente a infecciones (Riskin et al., 2012).

Una de las observaciones principales, fue el aumento en el número total de glóbulos blancos presentes en la leche materna, en respuesta a un estímulo infeccioso (Riskin et al., 2012). De igual modo, los monocitos plasmáticos emigran a la mama, donde se activan localmente para convertirse en macrófagos activos que se segregan en la leche (Martínez, 2005), para participar en la fagocitosis de diversos microorganismos, en la biosíntesis y excreción de elementos de inmunidad innata y adaptativa (Lactoferrina, lisozimas, prostaglandinas e inmunoglobulinas) que confieren protección inmunológica frente a virus, bacterias, hongos y protozoos (García, 2011).

Un estudio argentino, incluido en el metaanálisis, publicado en el año 2015, por el autor Breakey, incluyó la medición de 110 muestras de leche, permitió identificar la presencia de signos y/o síntomas de enfermedad en el lactante. Documentándose, la asociación positiva de Lactoferrina en aquellas muestras de madres con lactantes que habían cursado con algún proceso infeccioso el mes previo a la medición y/o en aquellas con hijos que desarrollarían alguno a corto plazo (Breakey et al., 2015). Resultados que exhibieron la naturaleza predictiva que posee cada uno de los componentes inmunes de la leche materna (Riskin et al., 2012).

Ensayos clínicos, los cuales permitieron llevar a cabo evaluaciones sistemáticas sobre los diversos factores que influyen de manera positiva o negativa en la composición inmune de la leche, algunos de ellos potencialmente modificables, tema que ha despertado gran interés por la investigación, desarrollo e implementación de estrategias que favorezcan la prevención y disminución de la morbimortalidad infantil.

1.2 Planteamiento del problema

A través del tiempo, se ha demostrado los beneficios nutricionales e inmunológicos que la leche materna provee a los lactantes, no sólo durante la lactancia, sino a lo largo de la vida (García, 2011). Siendo objeto de investigación, por ser la única sustancia bioactiva esencial para el desarrollo del sistema inmune y digestivo inmaduro del recién nacido.

De ahí deriva la importancia, que todo el personal de salud y público en general conozca sus propiedades y beneficios, así como los factores maternos y perinatales que influyen en la variabilidad de sus componentes, con el fin apoyar, promover y fomentar la lactancia materna como alimentación exclusiva desde el nacimiento hasta los primeros seis meses de vida y posterior al inicio de la alimentación complementaria.

Este estudio, centrará su atención en una glucoproteína que se ha descrito posee amplio poder biológico, que por sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales, antimicrobianas e inmunomoduladoras (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005), ha despertado gran interés en la comunidad científica, por su gran potencial no solo en el tratamiento, sino en la prevención de enfermedades del recién nacido y el lactante (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Los objetivos del presente estudio serán el evaluar y documentar los cambios que presenta la concentración de Lactoferrina en la leche, durante las diversas etapas de la lactancia, así como examinar los diversos factores maternos y perinatales que influyen de manera positiva o negativa en su biodisponibilidad y concentración (Aguado et al., 2012)

en una población de un banco de leche del Noreste de México.

Hoy en día, no hay estudios que establezcan si factores tales como: la ubicación, la geográfica, la edad materna, el número de gesta, el nivel socioeconómico, el estado nutricional, la edad gestacional al momento del parto y/o la vía de éste, poseen un impacto sobre la concentración de lactoferrina y su actividad biológica.

1.3 Objetivos de la investigación

Evaluar la variabilidad en la concentración de Lactoferrina presente en leche humana durante las diversas etapas de la lactancia, en un Hospital Regional Materno Infantil, perteneciente a la Secretaría de Salud del estado de Nuevo León.

Caracterizar los factores que influyen en la variabilidad de los niveles de lactoferrina en leche humana.

1.4 Justificación

El objetivo del presente trabajo de investigación será documentar los cambios dinámicos que presenta la concentración de Lactoferrina en la leche, durante las diversas etapas de la lactancia y examinar los diversos factores maternos y perinatales que influyen de manera positiva o negativa en su biodisponibilidad y concentración en una población de madres lactantes de un Hospital Regional Materno Infantil del Noreste de México.

Buscando el identificar, si factores tales como: la ubicación geográfica, la etnia, la edad materna, el número de gesta, el nivel socioeconómico, el estado nutricional materno, las infecciones, la edad gestacional al momento del parto y/o la vía de éste, poseen un impacto sobre su variabilidad.

Con el fin de informar a todo el personal de salud y público en general, las características generales, propiedades y beneficios únicos e insustituibles que provee la leche materna, así como los factores que influyen en su variabilidad, con el objetivo de proponer estrategias que garanticen, promuevan y fomenten la lactancia materna como alimentación exclusiva desde el nacimiento hasta los primeros seis meses de vida y posterior al inicio de la alimentación complementaria.

1.5 Alcance del Estudio

El descubrimiento científico de las propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales, antimicrobianas e inmunomoduladoras que posee la Lactoferrina, ha despertado gran interés en la comunidad médica, debido al efecto prometedor que ésta posee, no solo en el tratamiento sino en la prevención de enfermedades del recién nacido y el lactante (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Siendo este ensayo clínico, un parteaguas para el estudio de las diferentes variables que influyen en la concentración de esta proteína. Permitiendo identificar qué factores son modificables, con el fin de establecer estrategias de promoción que permitan una intervención eficaz, a través de la implementación de conductas potencialmente modificables que incentiven su participación en la prevención y reducción de la morbimortalidad infantil.

Capítulo 2: Marco Teórico

La leche materna, es un producto vivo de gran complejidad biológica, fuente ideal de nutrimentos, que cumple todos los requerimientos nutricionales del recién nacido (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018). Por sus cualidades protectoras, inmunomoduladoras y nutrimentales, representa el estándar de oro de alimentación y nutrición de todo recién nacido y lactante (Moro et al., 2019).

Hoy en día, la OMS plantea la universalización del acceso a la leche materna, a través del emprendimiento de acciones que sean capaces de asegurar no sólo su disponibilidad sino su calidad, inocuidad y la preservación de su valor biológico. Estableciendo a la lactancia materna como un derecho universal de todos los niños, a recibir una alimentación nutritiva, suficiente y de calidad que garantice y contribuya al crecimiento y desarrollo integral de estos (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018), el cual debe ser fomentado y protegido por organismos gubernamentales que establezcan acciones de orientación, capacitación y fomento de la lactancia materna.

La Asamblea Mundial de la Salud y la UNICEF decretaron en el año 2002, una Estrategia Mundial para la Alimentación del Lactante y del Niño Pequeño, cuyo objetivo postuló la creación de políticas nacionales y la promulgación de leyes que velen por el cumplimiento y promoción de una alimentación oportuna, adecuada, segura e inocua para la niñez que garantice y contribuya a su sano crecimiento y desarrollo integral.

Constituida por nutrimentos, sustancias inmunológicas, hormonas, enzimas, factores de crecimiento y células inmunoprotectoras (García, 2011), la leche materna representa la única sustancia bioactiva esencial para el desarrollo del sistema inmune y digestivo inmaduro del recién nacido (Salamanca et al., 2019). Siendo ideal su composición, para el crecimiento, desarrollo y maduración del lactante, durante los primeros seis meses de vida (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018).

Laboratorios que se dedican a la manufactura de fórmulas artificiales han intentado imitar al máximo la leche humana, siendo ésta el modelo base por excelencia (Martínez, 2005). Sin embargo, su composición rica en células vivas, así como la presencia de múltiples factores bioquímicos funcionales que posee, le confieren grandes ventajas de crecimiento y desarrollo que ninguna otra fórmula consigue (Madrazo, 2017).

Además, resulta imposible de imitar, ya que posee una amplia variabilidad de sus elementos en sus diferentes fases (Moro et al., 2019). Todo lo anterior, con el fin de adaptarse a los requerimientos nutricionales e inmunológicos del lactante, a medida que crece y se desarrolla.

Existen 4 tipos de leche materna de acuerdo con su composición y tiempo de producción. Fases, durante la cuales la leche materna sufre modificaciones en cada uno de los elementos que la integran en sus diferentes etapas: precalostro, calostro, leche de transición y leche madura (García, 2011). Cada una de ellas, con características específicas que satisfacen las necesidades propias de cada periodo de la vida.

Tipo de Leche	Características
Precolostro	<ul style="list-style-type: none"> • Exudado derivado del plasma, que se produce en la glándula mamaria a partir de la semana 16 de embarazo. • Rico en inmunoglobulinas, células, lactoferrina, ácidos grasos, magnesio, hierro, sodio, cloro y lactosa (García, 2011). • Posee mayor aporte de proteínas y menor cantidad de lactosa, condiciones que se adaptan a las condiciones fisiológicas del prematuro.
Calostro	<ul style="list-style-type: none"> • Se produce entre el día 1-5 postparto. • De consistencia espesa y pegajosa, de color amarillo que se le confiere por la presencia de B-carotenos. • Producto de alta densidad en bajo volumen, con rico aporte de proteínas (97% en forma de Inmunoglobulinas IgA), vitaminas liposolubles, grasas, lactosa, vitaminas hidrosolubles, lactoferrina, factores de crecimiento, lactobacilos, cloro y zinc (García, 2011).

	<ul style="list-style-type: none"> • Cuyo volumen varía entre los 2-20 mililitros/día, durante sus primeros días (cantidad suficiente para satisfacer las necesidades del recién nacido), y el cual aumenta de manera gradual hasta alcanzar los 100 mililitros/día (García, 2011). Efecto en relación directa con la intensidad y frecuencia del estímulo de succión.
<p>Leche de transición</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Inicia su producción posterior al calostro, manteniéndose alrededor del día 6 al 10 post parto. • De color blanco, secundario a la emulsificación de sus grasas y a la presencia de caseinato de calcio (García, 2011). • Período durante el cual se elevan de manera notable las concentraciones de grasa (colesterol, fosfolípidos, vitaminas hidrosolubles) y lactosa (García, 2011). • En contraste, el aporte proteico (inmunoglobulinas) disminuye sus niveles de manera secundaria a un efecto dilucional, esto debido al volumen promedio alcanzado (García, 2011).

	<ul style="list-style-type: none"> • Posee un volumen promedio que puede llegar a alcanzar los 660 mililitros/día.
<p>Leche madura</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Su producción comienza a partir del día 15 post parto y puede llegar a prolongarse más allá de los 15 meses (García, 2011). • Su volumen promedio por día puede llegar a alcanzar los 750-1200 mililitros/día (García, 2011). • Esta última etapa, comprende la fase más estable de sus componentes, en la que el agua representa un porcentaje aproximado del 87% (García, 2011), fracción que no se ve afectada por el estado de hidratación materno (25). En donde a pesar de las variaciones de consumo y pérdidas, el cuerpo intenta mantener una homeostasis de líquidos, a través de una disminución de pérdidas insensibles y diuresis, sin sacrificar producción.

	<ul style="list-style-type: none">• Entre sus características, cuenta con una osmolaridad de solutos entre 287-293 mOsm (García, 2011), valores equivalentes al plasma sérico, que permiten mantener un equilibrio hidroelectrolítico óptimo (Moradian et al., 2014).• Leche que brinda un aporte calórico entre 600-800 kcal/L, compuestas esencialmente por hidratos de carbono y grasas (García, 2011).
--	---

Químicamente constituida por azúcares, aminoácidos y ácidos grasos, macronutrientes esenciales para el crecimiento, desarrollo y adecuada función del cuerpo humano, de los cuales se hace mención de manera breve:

Hidratos de carbono

Compuesta por Lactosa, disacárido sintetizado a partir de glucosa y galactosa, representa el compuesto más abundante de la leche humana y el principal hidrato de carbono, fuente de energía (do Nascimento & Issler, 2003). Posee diversas funciones, entre las que destacan: el desarrollo de la flora intestinal por Bifidobacterias, la inhibición del crecimiento de patógenos y la absorción intestinal de calcio (García, 2011).

Sin embargo, no es el único carbohidrato presente en la leche. A través de diversos estudios de espectrometría realizados en el tiempo, se han identificado otros macronutrientes de mayor estructura y complejidad bioquímica, denominados oligosacáridos (Madrazo, 2017), cuyos efectos hoy en día siguen siendo objeto de interés e investigación, por su importancia en la intervención de procesos biológicos esenciales para el lactante (Vásquez, 2016), favoreciendo el desarrollo de la flora intestinal, la modulación del sistema inmune y el desarrollo del sistema nervioso (Salamanca et al., 2019).

Lípidos

La grasa contenida en la leche materna constituye la mayor fracción energética contenida en la leche, representando cerca del 65% del aporte energético total (Salamanca et al., 2019). Elemento que posee una gran variabilidad, no sólo a lo largo de día sino a lo largo de la tetada (Martínez, 2005), con variaciones adicionales, independientes e inherentes a cada mujer, entre las que destacan: la ingesta de grasa en la dieta, el índice de masa corporal materno y el volumen de producción lácteo (Ballard & Morrow, 2013).

DHA (ácido docosaexanoico), ácido graso vital para el desarrollo estructural y funcional de los sistemas visual-sensorial-perceptual y cognitivo del lactante (Brunser, 2019). AA (ácido araquidónico), sustrato esencial para la formación de eicosanoides; moléculas de carácter lipídico originadas a través de la oxidación de los ácidos grasos esenciales, cuya función principal es la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos, clínicamente relevantes, por ser potentes moduladores intracelulares de respuesta inflamatoria sistémica (García, 2011).

Proteínas

Elemento esencial de la leche, representado por la fracción de proteínas contenida en ella, cuya concentración varía entre 8-9 gramos/Litro, cantidad que se reduce de manera significativa con la progresión de la lactancia. Del total del aporte proteico, 40% se encuentra presente en forma de caseína (Ballard & Morrow, 2013); proteína de alto valor biológico que contribuye a la inhibición en la adhesión de microorganismos patógenos a las mucosas, así como al transporte de calcio, fósforo y aminoácidos, estructuralmente esenciales para la formación de nuevas células (García, 2011).

El 60% restante, constituido por proteínas derivadas del suero: alfa-lacto albúmina, seroalbúmina, beta-lactoglobulinas, inmunoglobulinas, glicoproteínas, lactoferrina, lisozimas, lactoperoxidasas, enzimas moduladoras del crecimiento, hormonas y prostaglandinas (García, 2011); compuestos bioactivos que intervienen en la modulación de rutas metabólicas, participando como promotores e inmunorreguladores de la respuesta inmune (Gómez et al., 2009).

Se han estudiado otros compuestos nitrogenados presentes en forma de aminoácidos libres (taurina, carnitina, ácido glutámico, cisteína y glutamina) los cuales poseen diversas funciones que contribuyen al desarrollo y función de diversos órganos (García, 2011).

Taurina, compuesto que posee una amplia distribución en múltiples tejidos, destacando por ser el segundo aminoácido más abundante en la leche materna (Gómez et al., 2009), y el más importante por su significativa presencia en el cerebro humano fetal y

del lactante (Martínez, 2005), distinguiéndose por su participación en la absorción de grasas, síntesis de ácidos biliares, así como en el desarrollo y maduración del sistema nervioso central y la retina (Martínez, 2005).

A partir de este momento, se describirá a detalle, una de las proteínas más abundantes, presente en la leche materna, lactoferrina. Molécula que posee diversos mecanismos y aplicaciones potenciales, que por sus propiedades fisicoquímicas provee de importantes beneficios inmunoprotectores al lactante (Maldonado, 2014).

La lactoferrina, también conocida como lactotransferrina, es una glucoproteína globular de 80 kDa, monomérica, de unión al hierro, perteneciente a la familia de las transferrinas (Moradian et al., 2014), producida por células epiteliales de diversos tejidos mucosos. Destacando su presencia en distintos fluidos biológicos tales como: la leche materna, saliva, lágrimas, fluidos seminales y vaginales (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Proteína del suero, dominante en la leche materna, multifuncional por sus diversas propiedades clínicas que contribuyen de manera significativa en la salud, crecimiento y desarrollo del lactante (Gómez et al., 2009). Desde su descubrimiento ha sido objeto de estudio, debido a los múltiples beneficios que exhibe, entre los que destacan: propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, antivirales, antifúngicas e inmunomoduladoras (Agüero, Quijada y García, 2008).

Posee una gran variabilidad de sus concentraciones en las diversas etapas de la lactancia (Woodman et al., 2018), determinadas por factores maternos y perinatales que influyen de manera positiva o negativa en sus niveles de concentración. Motivo por el cual resulta valioso conocer qué factores afectan su biodisponibilidad y su concentración (Moradian et al., 2014).

Sin embargo, no hay estudios suficientes que establezcan si factores tales como: la ubicación geográfica, el origen étnico, la edad materna, la paridad, el nivel socioeconómico, el estado nutricional, las infecciones, el antecedente de prematuridad y/o el tipo de parto, influyen en los niveles de Lactoferrina presente en la leche (Woodman et al., 2018).

Hoy en día, se ha despertado gran interés por estudiar y conocer la amplia gama de efectos biológicos que posee y los diversos mecanismos que contribuyen con su capacidad de acción, no sólo en el tratamiento sino en la prevención de enfermedades en el recién nacido y el lactante (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Diversos ensayos clínicos han documentado los diferentes mecanismos directos e indirectos a través de los cuales ejerce su acción inmunoprotectora. Los primeros comprenden actividades bacteriostáticas y bactericidas, mientras que los indirectos se basan en la inhibición de la adherencia de patógenos a las células y en la modulación de la respuesta del sistema inmune (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

La función bacteriostática de ésta se debe a la capacidad que posee la apolactoferrina (molécula de lactoferrina libre), de ligar iones Fe (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005), la cual posee la capacidad de secuestrar este mineral, nutriente esencial que cumple con diversos procesos biológicos esenciales para el desarrollo de bacterias, inhibiendo así su crecimiento (Moradian et al., 2014).

Cuando un microorganismo (bacteria, protozoo, alga u hongo), ingresa a un hospedero de forma patógena o simbiótica, encuentra un ambiente favorable para su crecimiento y proliferación al estar en contacto directo con todos los nutrientes. Sin embargo, existe un elemento, que no se encuentra libremente disponible, el hierro, situación que se convierte en un factor limitante para su desarrollo (Gómez et al., 2009). Siendo así su disponibilidad, factor determinante en el éxito y/o fracaso de la colonización e invasión de un ambiente determinado (Aguado et al., 2012).

Sin embargo, se ha documentado que algunas bacterias, particularmente Gram negativas, han desarrollado mecanismos para recuperar el Fe⁺ secuestrado por la lactoferrina, a través de la producción de sideróforos (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005), compuestos de bajo peso molecular, quelantes específicos de Fe³⁺ encargados del secuestro y su transporte.

Por otro lado, esta glucoproteína posee propiedades bactericidas que se le atribuyen la capacidad que posee de causar daño directo a la membrana de bacterias, aumentando su permeabilidad y de este modo favoreciendo su vulnerabilidad frente a proteínas sinergistas con propiedades catalíticas y/o opsonizantes (encargadas del marcaje, endocitosis y destrucción de patógenos a través de fagocitosis) (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Otra propiedad esencial de la lactoferrina está en la capacidad que tiene de impedir la adhesión bacteriana a las células huésped a través de su unión a glicosaminoglicanos (moléculas receptoras de patógenos) (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Por todo lo anterior, hoy en día ha despertado gran interés no solo el estudio de sus propiedades sino la adición de ésta a fórmulas infantiles, como alternativa en la prevención de infecciones neonatales. Sin embargo, hace falta la realización de un mayor número de ensayos clínicos, que brinden evidencia sólida acerca de la conservación de sus propiedades biológicas y el estudio de su costo efectividad.

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el objetivo de documentar los cambios dinámicos que presenta la concentración de Lactoferrina a través de las diversas etapas de la lactancia, evaluando además la influencia que ejercen diversos factores maternos y perinatales no sólo sobre su concentración sino en su bioactividad.

Permitiendo a través del análisis de estos resultados, informar a todo el personal de salud y público en general no sólo las características generales, propiedades y beneficios únicos e insustituibles que provee la leche materna sino los factores potencialmente modificables que a través de la implementación de acciones y modificación de conductas, contribuyan en la prevención y reducción de la morbimortalidad infantil.

Capítulo 3: Metodología

3.1 Diseño del estudio.

Se realizó un estudio replicativo, observacional, descriptivo y analítico, con el objetivo de establecer los factores que influyen en la variabilidad de la concentración de Lactoferrina de leche humana, en madres lactantes de un Hospital Regional Materno Infantil de Alta Especialidad del Noreste de México. El estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética institucional.

3.2 Clasificación del Estudio

Se trata de un estudio replicativo, el cual tiene como fundamento diversos ensayos clínicos realizados a lo largo del tiempo en otros continentes, utilizando metodología similar sin embargo con diferentes sujetos (poblaciones diana) e investigadores. Hecho el cual enriquece nuestra investigación al poder aplicar la teoría ya existente a una situación (entorno nuevo) con la finalidad de comparar y definir su aplicabilidad a distintos grupos de edades, razas, lugares y/o culturas. Permitiendo además la inclusión de nuevas variables de estudio que brinden resultados útiles, fiables y válidos.

Este estudio no realiza ninguna intervención durante su realización, ya que se trata de una investigación sin riesgo, acorde a la clasificación de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en el apartado No. 17. Sin embargo a través del análisis de resultados, se busca determinar qué factores son potencialmente modificables, con el fin de establecer estrategias de promoción, que permitan una intervención eficaz, a

través de la implementación de conductas que fortalezcan la prevención y reducción de la morbimortalidad infantil.

3.3 Tipo de Investigación

El tipo de estudio que se llevó a cabo fue observacional ya que el diseño de la investigación se caracterizó por la observación y registro de los acontecimientos, sin intervención alguna del investigador durante el curso del ensayo clínico.

De carácter descriptivo ya que su objetivo fue la descripción de distintas variables de una población en un tiempo determinado, sin incluir grupos de control. Analítico, ya que se analizaron las distintas variables de estudio entre los diferentes grupos, tratando de establecer una relación de asociación causal entre ellas.

3.4 En relación con el tiempo

Transversal, ya que se evaluaron las diferentes variables a estudiar de manera simultánea, midiéndose la relación existente entre éstas, en un período de tiempo y lugar determinado, establecidos por los investigadores.

3.5 Clasificación de la investigación.

Según el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en el apartado del Artículo N° 17 se clasifica dicho estudio en: Investigación sin riesgo.

3.7 Tipo de Análisis

Se analizaron 77 muestras de leche materna donada por madres en diferentes estadios de lactancia. Para cuantificar los niveles de lactoferrina se subdividieron en: calostro, leche de transición y leche madura; las cuales se agruparon para hacer un análisis descriptivo de la concentración de lactoferrina, y un análisis posterior entre las distintas variables de estudio.

Llevándose a cabo pruebas de asociación entre la concentración de lactoferrina y las distintas variables: peso, talla, IMC, edad gestacional, ubicación demográfica, escolaridad, ingresos mensuales, tipo de alimentación, etc. Los resultados se muestran como la media, promedio, desviación estándar, Q1, Q3 e intervalo intercuartil. Las diferencias entre grupos fueron establecidas con un valor de $p < 0.05$.

3.8 Población

Madres del Hospital Regional de Alta Especialidad Materno Infantil en cualquier periodo de lactancia, que cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaran su participación.

3.9 Métodos de selección de los participantes.

La muestra a estudiar fue determinada por conveniencia de acuerdo con los recursos disponibles. Se incluyeron 77 muestras de leche, diferenciadas al momento de la recolección (calostro, leche de transición y/o leche madura). Las pacientes participantes seleccionadas cumplieron con los criterios de inclusión al protocolo de investigación,

aceptando su inclusión al estudio a través de la firma de un consentimiento informado por escrito.

3.10 Criterios de inclusión y exclusión de los participantes

3.10.1 Criterios de inclusión

- Madres en cualquier periodo de lactancia.
- Donación por madres sin algún antecedente personal patológico.
- Donación por madres que no consumieron o recibieron antibióticos o medicamentos en las últimas 48-72 horas.
- Madres que aceptaron su participación a través de la firma de un consentimiento informado.

3.10.2 Criterios de exclusión

- Madres portadoras de alguna enfermedad de base.
- Madres que consumieron o recibieron algún fármaco 48-72 horas previas a la donación.
- Madres donadoras que no aceptaron participar en el estudio.

3.11 Materiales

Para la realización de la investigación se utilizaron:

- Formato de encuestas impresos en hojas tamaño carta y lápices
- Frasco estéril para almacenamiento de leche.
- Kit Human Lactoferrin Simple Step ELISA ®

- Anticuerpo de captura de lactoferrina humana 10X (600 μ L)
- Anticuerpo detector de lactoferrina humana 10X (600 μ L)
- Proteína purificada liofilizada de lactoferrina humana 2 viales
- Diluyente de anticuerpos 5BI (6 ml)
- Tampón de lavado PT 10X (20 ml)
- Solución de desarrollo TMB (12 ml)
- Solución de parada (12 ml)
- Diluyente de muestra NS (50 ml)
- Microplaca Simple Step pre-recubierta de 96 pocillos
- Micropipetas multicanal y monocanal.
- Espectrofotómetro capaz de medir la absorbancia a 450-600 nm.
- Agua desionizada.
- Microtubos graduados plástico Eppendorf® para dilución estándar.
- Agitador de placas
- Computadoras personales de cada investigador para la captura y análisis de datos.
- Software de Microsoft EXCEL® para la concentración de la base de datos y tabulación de resultados
- Software SPSS para el análisis estadístico.
- Software de Microsoft Word® para la realización de la encuesta y redacción del protocolo.

3.12 Técnica

La técnica para la recolección de datos fue a través de la aplicación de un cuestionario, cuya finalidad fue la obtención de información general acerca de las variables a estudiar en cada una de las madres participantes. Análisis de datos el cual permitió investigar la existencia de asociación entre cada una de las variables maternas y la concentración de Lactoferrina presente en la muestra de leche donada.

Se diseñó una encuesta compuesta por 23 preguntas de las cuales 3 fueron demográficas, 14 epidemiológicas, 3 de aspecto nutricional, 1 socioeconómica y 2 de aspecto sociocultural. Las respuestas de cada pregunta se clasificaron en base a indicadores internacionales de la OMS, WHO, PAHO y Academia Americana de Pediatría. Por ejemplo, el rango de hemoglobina obtenido se clasificó en base a los valores de corte que establece la OMS para las anemias nutricionales. La edad gestacional en base a los criterios que establece la Academia Americana de Pediatría y el IMC materno de acuerdo con los valores de referencia que establece la Organización Mundial de la Salud (OMS).

3.13 Instrumentos de medición

1.13.1 Fase 1: Construcción de la herramienta

Se realizó el cuestionario tomando en cuenta algunas de las variables maternas que se analizaron en los ensayos clínicos que se tomaron de referencia para el estudio, agregando preguntas de aspecto nutricional, socioeconómico y epidemiológico no estudiadas previamente. Algunas de estas variables, potencialmente modificables, razón

por la cual se consideró valiosa su inclusión al estudio, ya que el determinar su asociación positiva o negativa, podría permitir el desarrollo y promoción de estrategias, así como la implementación de conductas que favorezcan un aumento en la concentración de Lactoferrina y por tanto una reducción de la morbimortalidad infantil.

Posterior a la aprobación del cuestionario por el Comité de Ética, se aplicó con el nombre de Hoja de recolección de datos en formato de papel a todas las madres del Hospital Regional de Alta Especialidad Materno Infantil en cualquier período de lactancia, que cumplieron con los criterios de inclusión y que aceptaron su participación en el estudio.

3.13.2 Fase 2: Aplicación de la Herramienta

Los días de recolección de muestras, fueron determinados a conveniencia por el médico investigador, el cual acudió al Hospital Regional de Alta Especialidad Materno Infantil, en búsqueda de madres que se encontraran en cualquier periodo de lactancia, que cumplieran con los criterios de inclusión y aceptaran su participación al proyecto.

Se realizó un interrogatorio dirigido a cada una de las madres participantes, descartando a aquellas con factores de riesgo por su estado de salud actual y/o prácticas de vida. Las madres participantes fueron informadas de manera verbal y escrita, acerca de la metodología del estudio, su desarrollo y objetivos, resolviéndose en todo momento dudas e inquietudes referentes al proyecto. Posteriormente se procedió al llenado del cuestionario

y firma del consentimiento informado. Más adelante se integró toda la información obtenida en una base de datos en Microsoft Excel®.

3.14 Lugar donde se realizó el estudio

El llenado de la Hoja de recolección de datos, se realizó en un Hospital de segundo nivel de Secretaría de Salud, Hospital Regional de Alta Especialidad Materno Infantil en Nuevo León.

3.15 Variables, definición operacional y escala de medición

Se tomaron en cuenta variables maternas analizadas previamente en los ensayos clínicos tomados como referencia para nuestro protocolo, agregando variables de aspecto nutricional, socioeconómico y epidemiológico que enriquecieran por su variabilidad la investigación.

Descripción de las variables

Variable	Valores posibles	Tipo de variable	Estadística
Concentración de lactoferrina	Continua (ng/ml)	Cualitativa nominal	T student
Ubicación Geográfica	Urbano Rural	Cualitativa nominal Dicotómica	Xi2

Edad materna	15-20 años 21-25 años 26-30 años 31-35 años 36-40 años 41-45 años >45 años	Cuantitativo	xi2
Paridad	Gesta 1 Gesta 2 Gesta 3 Gesta 4 >5 Gesta	Cuantitativo	xi2
Nivel socio económico	Alta, ingresos mensuales >100,000 pesos Media alta, ingresos mensuales entre 45-50 mil pesos Media, ingresos entre 30- 40 mil pesos Media baja, ingresos 9-18 mil pesos Baja alta, 4,500-9 mil pesos Baja Baja < 4500 pesos	Cualitativa ordinal	xi2

Grado de escolaridad	<p>Analfabeta</p> <p>Primaria</p> <p>Secundaria</p> <p>Preparatoria</p> <p>Licenciatura</p> <p>Posgrado</p>	Cualitativa ordinal	xi2
Estado nutricional materno	<p>Bajo Peso IMC <18.5</p> <p>Normal IMC 18.5-24.9</p> <p>Sobrepeso IMC 25-29.9</p> <p>Obesidad tipo I IMC 30-34.9</p> <p>Obesidad tipo II IMC 35-39.9</p> <p>Obesidad tipo III (Mórbida) IMC >40</p>	Cualitativa ordinal	xi2
Edad gestacional al momento del parto	<p>Postérmino < semana 42</p> <p>Término semana 37-41</p> <p>Prematuro tardío semana 34 a 36.6</p> <p>Muy Prematuro < semana 32</p>	Cualitativa ordinal	xi2

	Extremadamente prematuros < 28 semanas.		
Vía de nacimiento	Parto Cesárea	Dicotómica	xi2
Tipo de leche	Calostro Leche de transición Leche madura	Cualitativa ordinal	xi2
Tabaquismo	Fumadora No fumadora	Cualitativa binaria	xi2
Hemoglobina sérica materna	Normal (12-14 mg/dl) Anemia leve (11-11.9 mg/dl) Anemia moderada (8-10.9 gr/dl) Anemia Severa (<8 gr/dl)	Cuantitativa	xi2
Peso materno	Kilos	Cuantitativo	xi2
Talla materna	cm	Cuantitativo	xi2

Sexo hijo	Femenino Masculino	Cualitativa nominal Dicotómica	xi2
Peso hijo	Kilos	Cuantitativo	xi2
Talla hijo	cm	Cuantitativo	xi2
Municipio Residencia	-	Cualitativos nominales	xi2
Estado de la República Mexicana Nacimiento	Aguascalientes Baja California Baja California Sur Campeche Chihuahua Chiapas Coahuila Colima Durango Guanajuato Guerrero Hidalgo Jalisco México Michoacán Morelos	Cualitativos nominales	xi2

	<p>Nayarit</p> <p>Nuevo León</p> <p>Oaxaca</p> <p>Puebla</p> <p>Querétaro</p> <p>Quintana Roo</p> <p>San Luis Potosí</p> <p>Sinaloa</p> <p>Sonora</p> <p>Tabasco</p> <p>Tamaulipas</p> <p>Tlaxcala</p> <p>Veracruz</p> <p>Yucatán</p> <p>Zacatecas</p> <p>Ciudad de México</p>		
Número de comidas al día	<p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>5</p>	Cuantitativo	xi2
Vasos de agua al día	<p>1-2</p> <p>3-4</p> <p>5-6</p> <p>7-8</p> <p>9-10</p> <p>>10</p>	Cuantitativo	xi2

Consumo de Lácteos	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2
Consumo de Huevo	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2
Consumo de Carne Roja	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2
Consumo de Pollo	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2

Consumo de Pescado	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2
Consumo de Verduras	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2
Consumo de Frutas	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2
Consumo de Arroz	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2

Consumo de Legumbres (frijol, lentejas, garbanzo, habas y alberjón)	1 2 3 4 5 6 7	Cuantitativo	xi2
Enfermedad durante el último mes	Si No	Cualitativa nominal Dicotómica	Xi2

3.16 Técnica

La recolección de leche se llevó acabo en distintas visitas, cuyas fechas fueron determinadas a conveniencia por el médico investigador, el cual acudió al Hospital Regional de Alta Especialidad Materno Infantil, en búsqueda de madres que se encontraran en cualquier periodo de lactancia, que cumplieran con los criterios de inclusión y aceptaran su participación en el proyecto.

Las madres participantes fueron informadas de manera verbal y escrita, acerca de la metodología del estudio, su desarrollo y objetivos, resolviéndose en todo momento las dudas e inquietudes referentes al proyecto. Posteriormente se procedió al llenado del cuestionario, firma del consentimiento informado y recolección de la muestra de leche;

siempre anteponiendo los cuidados y medidas de protección necesarias para la prevención del contagio por el virus SARS-CoV-2, a través del lavado frecuente de manos, uso de cubrebocas obligatorio, aplicación de gel con base de alcohol al 70% y mantenimiento de una sana distancia de al menos 1.5 metros entre médico y paciente.

El llenado del cuestionario, la firma del consentimiento y la recolección de muestra se llevaron a cabo en el lactario Institucional del Hospital Regional Materno Infantil. Al término del cuestionario, se solicitó la realización de un lavado de manos con agua y jabón.

Posteriormente el investigador realizó una breve asesoría sobre de la técnica de recolección de leche. Destacando la importancia de la realización de un masaje suave, en círculos y la adopción de una postura cómoda, previa a la extracción. Enseñando a cada una de las madres, la técnica de Marmet, la cual consiste en la colocación de la mano en forma de “C” invertida, haciendo presión con los dedos pulgar, índice y medio, hacia atrás, repitiendo rítmicamente hasta la obtención de leche.

Al término de la recolección, se realizó el cierre hermético de la muestra e inmediata identificación (número, nombre paciente y fecha). Consecutivamente, las muestras se colocaron en una hielera con gel refrigerante congelado para su transporte al laboratorio de Investigación del Centro de Innovación y Transferencia en Salud (CITES) de la Escuela de Medicina del Tecnológico de Monterrey, donde fueron almacenadas en un congelador a una temperatura de -20° C hasta su análisis, manteniéndose en resguardo

durante 15 días, tiempo durante el cual las muestras fueron sometidas a las mismas condiciones de temperatura.

Para la medición de Lactoferrina, se utilizó el kit SimpleStep ELISA de abcam®, diseñado para la medición cuantitativa in vitro de lactoferrina humana presente en suero, plasma, leche, orina y/o saliva. Metodología la cual se llevó a cabo de acuerdo con las especificaciones del fabricante y la cual se explicará brevemente, a continuación:

Preparación de la muestra de Leche materna (desgrasado)

1. Se centrifugó cada una de las muestras de leche a 500 xg durante 15 minutos a una temperatura de 4 °C, colectando al término la fracción acuosa con una jeringa.
2. La fracción acuosa colectada, se sometió a un nuevo ciclo de centrifugación a 3.000 xg durante 15 minutos a 4 °C, colectando nuevamente la fracción acuosa (leche desgrasada).
3. Dicha fracción colectada, se sometió a un proceso de alícuotas (4) hasta la obtención de una dilución 1: 1 000, 000, realizándose ésta última con un diluyente de muestra NS (incluido en el Kit).

Procedimiento del ensayo:

1. El kit cuenta con 96 pocillos para el análisis de cada muestra.
2. Previo al inicio del proceso, se colocaron a temperatura ambiente todos los materiales y reactivos antes de su uso.

3. Se agregaron 50 μL de la muestra o estándar en cada uno de los pocillos y posteriormente 50 μL del cóctel de anticuerpos a cada uno de ellos (incluido en el kit).
4. Al término, cada placa fue sellada e incubadas en un agitador de placas a 400 rpm, por un lapso aproximado de una hora a temperatura ambiente.
5. Finalizado el proceso de incubación, se realizó el lavado de cada pocillo con una solución tampón, incluida en el kit.
6. Se añadió a cada pocillo, 100 μL de solución de desarrollo TMB, posteriormente se sometió a un nuevo proceso de incubación en agitador a 400 rpm, durante 8 minutos.
7. Al término de este proceso, se agregaron 100 μL de solución de parada (incluido en el kit) a cada pocillo, agitando la placa durante 1 minuto.
8. Mediante un equipo de espectrofotometría se realizó la lectura de las absorbancias de Lactoferrina a una longitud de onda de 450 nm.
9. Posteriormente se determinó la concentración de la proteína objetivo (Lactoferrina) en la muestra, interpolando los valores de absorbancia en la curva tipo.
10. La dosis mínima detectable calculada (MDD) del kit es 48.8 pg / mL.
11. Al término, se llevó a cabo el análisis de datos.

3.17 Análisis estadístico

Se recolectaron las respuestas obtenidas de cada uno de los cuestionarios aplicados para ser procesadas y analizadas en Microsoft Excel®. Los datos recabados, fueron analizados con el programa estadístico Minitab ver.19.2020.1. Se realizó estadística descriptiva, la cual incluyó promedios, desviaciones estándar y distribución por cuartiles para las variables de estudio continuas. Las diferencias entre grupos para variables cuantitativas con distribución normal se llevaron a cabo empleando pruebas paramétricas (T- Student y ANOVA). Y para el análisis de variables sin distribución normal, se emplearon pruebas no paramétricas (U-Mann Whitney). Adicionalmente se realizó el análisis de asociación entre variables y el análisis de frecuencias (χ^2), estableciendo diferencias estadísticamente significativas con una $p < 0.05$.

Capítulo 4. Resultados

Descripción general de las participantes del estudio

Se aplicaron un total de 100 cuestionarios durante el periodo Agosto-Noviembre del 2020, de las cuales 77 cumplieron con los criterios de inclusión y 23 (9%) fueron eliminados al no cumplir con éstos.

Se incluyeron un total de 77 muestras de las cuales, 33 (42.8%) fueron muestras de calostro, 17 (22.1%) muestras de leche de transición y 27 (35.1%) muestras de leche madura. La mediana de edad de las participantes donadoras fue de 22.5 años con un Q1 de 19 y un Q3 de 28. La mediana del peso fue de 63.7 kg con un IQR de 58-79 kg, la mediana de la talla fue de 1.6 metros (IQR: 1.54-1.66); y la mediana de IMC fue de 25 kg/mts² (IQR: 22.8-30.7). La mayor parte de la población muestreada presentó embarazo a término, con una mediana de 38 SDG (IQR: 36-39.8); la mediana del número de embarazos fue de 2 (IQR: 1-3).

El total de la muestra pertenecía a la zona urbanizada. La mayor proporción de participantes era originaria del estado de Nuevo León (48, 62.3%), seguido de San Luis Potosí (7, 9.1%), Tamaulipas (6, 7.8%) y Veracruz (6, 7.8%). De éstas, la mayoría pertenecía al municipio de Monterrey (17, 22.1%), Juárez (12, 15.6%) y Apodaca (10, 13%).

El consumo de cigarros estuvo presente en el 6.4% de la muestra (n=5/77). De las pacientes que refirieron tabaquismo activo, 3 de ellas consumían al menos dos cigarrillos diarios y 2 de ellas un cigarrillo diario.

La recolección de las muestras de leche se realizó en promedio en el día 1 (rango 0-4 días) para el calostro, en el día 7 (rango 5-10 días) para la leche de transición y en el día 30 (rango 18-74) para la leche madura. Para el calostro el promedio de SDG que tuvieron las pacientes fue de 38.9 ± 1.23 , en el caso de la leche de transición de 36.3 ± 3.3 SDG y en la leche madura de 35.1 ± 4.4 SDG. Dos de las pacientes participantes presentaron embarazos gemelares.

Dieta empleada por las participantes del estudio.

El promedio de comidas al día/semana en general era de 3.2 ± 0.5 , con una mediana de 3, un mínimo de 2, y un máximo de 5. Se estudió el consumo diario/semanal de diferentes tipos de alimentos como lácteos, huevo, carne roja, pollo, pescado, verduras, frutas, arroz, legumbres y agua.

El consumo medio de *lácteos* general fue de 4.2 ± 2.4 días/semana; y al ser clasificado de acuerdo con el tipo de leche se encontró que el consumo fue ligeramente mayor en el calostro con al menos 4.5 ± 2.2 días/semana, en contraste con el resto de los tipos de leche. En la leche de transición fue de 4.1 ± 2.5 días/semana y en la leche madura de 4.0 ± 2.6 días/semana. El consumo diario/semanal de *huevo* medio fue de 4.0 ± 2.3 ; y dentro de los

subgrupos el calostro presentó un consumo medio mayor que el resto con al menos una ingesta de 4.1 ± 2.27 días/semana

Respecto al consumo de productos cárnicos, se observó que el consumo de carnes rojas predominaba entre el consumo del resto de los alimentos cárnicos, como pollo y pescado. Se presentó un consumo general medio de 2.73 ± 2.05 días/semana y dentro de los subgrupos lácteos el de la leche madura con un consumo diario/semanal de 2.9 ± 2.02 . El resto de este tipo de alimentos como pollo en general fue de 2.68 ± 1.88 días/semana. El mayor consumo de pollo se encontró en la leche de transición con una media de consumo semanal de 3.1 ± 0.4 . Por su parte, el consumo medio de pescado fue de 0.92 ± 1.2 días/semana. Los grupos de mayor consumo de pescado fueron leche de transición con 1.03 ± 1.1 y leche madura con 1.02 ± 1.6 .

El consumo medio de verduras general fue de 4.44 ± 2.43 días/semana, discretamente mayor en el grupo de leche madura con un consumo medio semanal de 4.5 ± 2.1 días/semana; el consumo medio de frutas fue de 5.25 ± 2.36 días/semana. El mayor consumo de frutas se encontró en las pacientes del grupo calostro con un consumo medio de al menos 5.6 ± 2.0 días/semana.

En cuanto al consumo de arroz, la ingesta media diaria/semanal fue de 3.97 ± 2.5 . Los grupos de mayor consumo fueron, calostro y leche de transición, el primero con un consumo medio de 3.9 ± 2.5 días/semana y el segundo con 3.9 ± 2.3 días/semana. El consumo

medio general de legumbres fue de 4.4 ± 2.47 días/semana. El mayor consumo se observó en el grupo del calostro con al menos un consumo medio de 5.1 ± 2.3 .

La ingesta de vasos de agua fue 3.18 ± 1.26 vasos/día/semana. El consumo medio de vasos de agua fue mayor en el grupo de leche de maduración en el que el consumo semanal medio era de 3.4 ± 1.3 vasos diarios de agua a la semana.

Descripción de las variables de los hijos de las participantes del estudio

La proporción del sexo de los hijos de las participantes fue género femenino en el 53.2% (n=41) y masculino en el 46.8% (n=36). La vía de resolución del embarazo fue por parto vaginal en el 62.3% (n=48) y cesárea en el 37.7% (n=29).

En cuanto a los datos antropométricos de los productos, la mediana del peso fue de 3,050 gr (IQR: 2,345-3,340) y de la talla de 49 cm (IQR: 41-51). La mediana del IMC en general fue de 12.3 kg/mts² (IQR:10.7-13.3). La alimentación fue exclusiva en el 71.4% (n=55) y complementaria en 28.6% (n=22).

Lactoferrina

Respecto a la cantidad de lactoferrina encontrada de forma general en las muestras de leche materna, se observó un promedio de 3.3 ± 1.6 g/L, con una mediana de 2.85, Q1: 1.91, y un Q3: 4.9, esto durante todo el ciclo lactario y sin tomar en cuenta las fases de transición de la leche materna.

Los niveles de concentración de lactoferrina fueron diferentes en cada una de las etapas de la lactancia materna. Encontrándose una mayor proporción en el calostro, con una media calculada de 5.4 ± 0.89 g/L, valores que se contrastan al comparar las medias calculadas para la leche de transición, 2.9 ± 0.6 g/L y la leche madura, 1.7 ± 0.2 g/L.

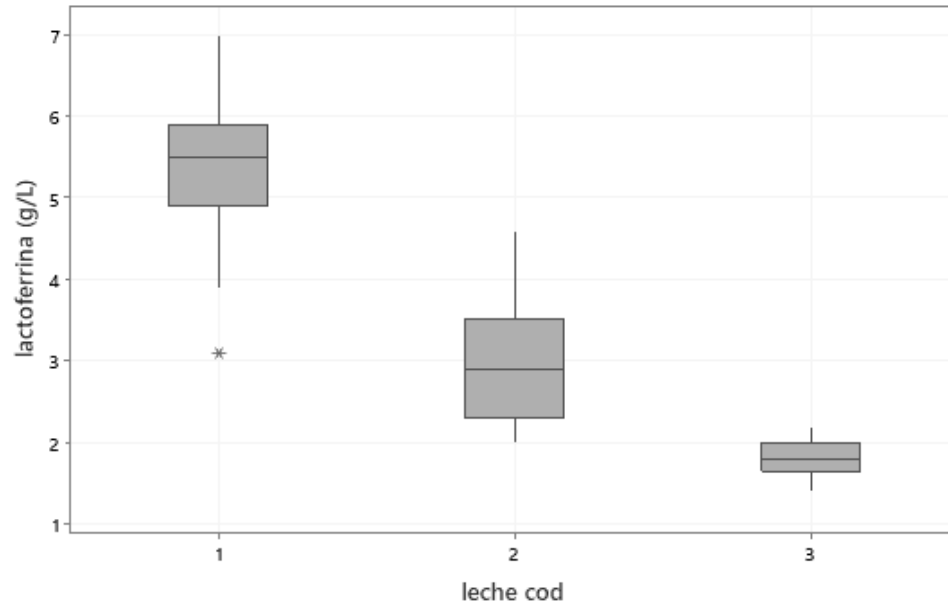


Figura 1. Concentración de lactoferrina (g/L) de acuerdo con el tipo de leche materno. 1. Calostro, 2. Leche de transición y 3. Leche madura.

De igual forma, se analizó el impacto que tienen las medidas antropométricas de las participantes respecto a la concentración de Lactoferrina. Realizándose un análisis de regresión lineal, sin encontrar asociación significativa entre la concentración de los niveles de lactoferrina, respecto a la edad materna ($p=0.818$), el peso ($p=0.473$) y el IMC ($p=0.617$)

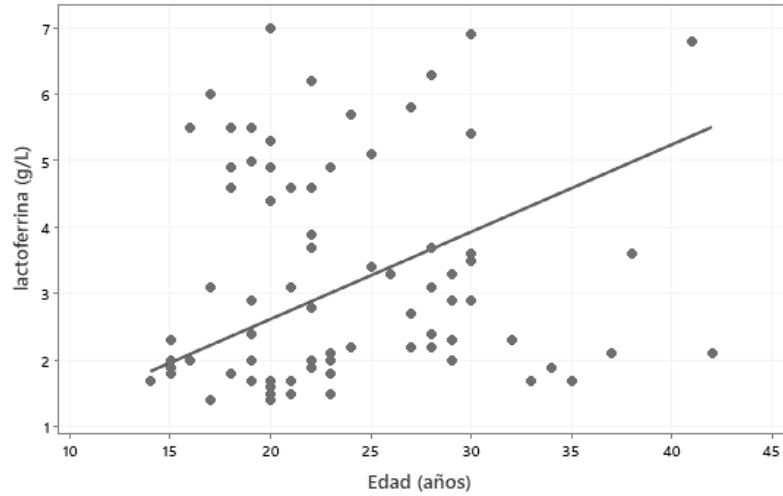


Figura 2. Gráfico de dispersión de la concentración de lactoferrina de acuerdo con la edad de la participante donadora de la leche materna.

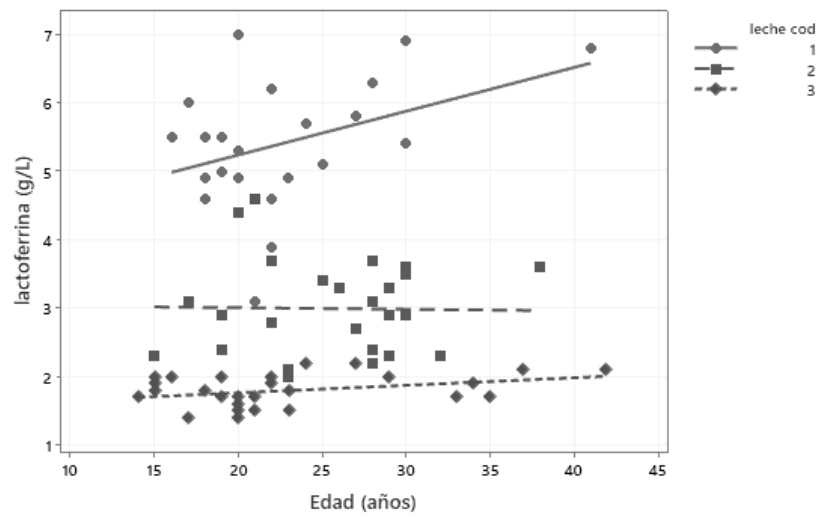


Figura 3. Gráfico de dispersión de la concentración de lactoferrina de acuerdo con el tipo de leche y la edad de la paciente donadora. 1. Calostro (línea continua, puntos), 2. Leche de transición (línea guión largo discontinua, cuadrados) y 3. Leche madura (línea guión corto discontinua, diamantes).

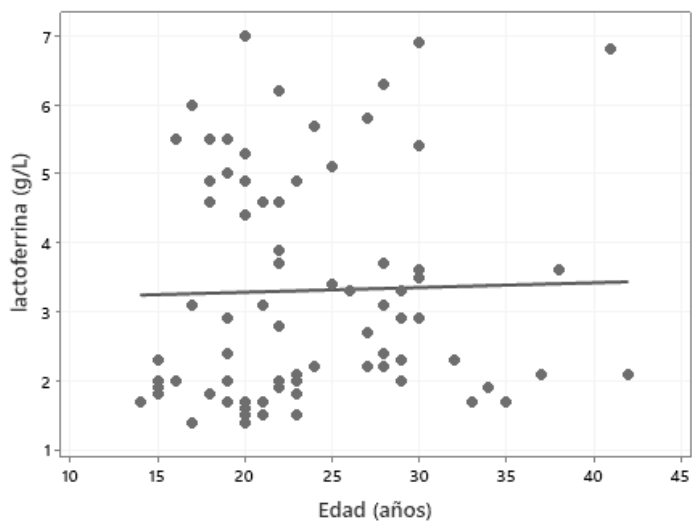


Figura 4. Gráfico de línea ajustado para la concentración de lactoferrina de acuerdo con la edad de la paciente donadora. $S=1.64651$, $R-Sq$ 0.1%, $R-Sq(adj)$ 0.0%, $p=0.818$.

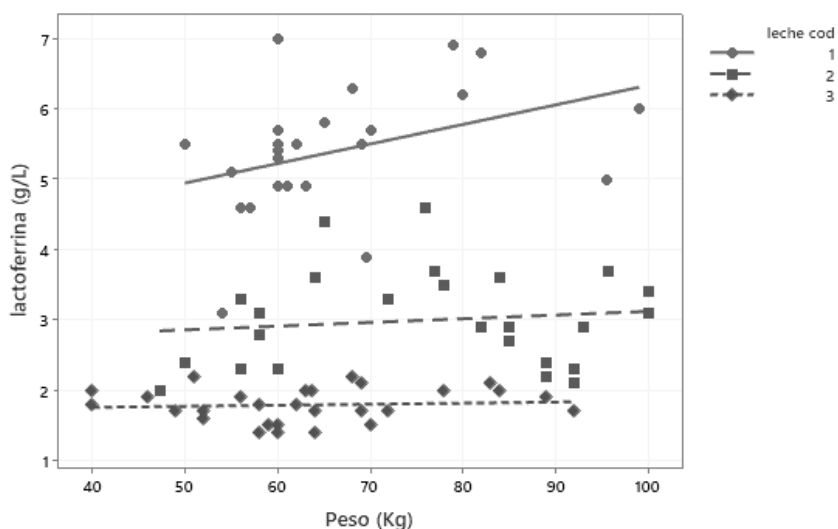


Figura 5. Gráfico de dispersión de la concentración de lactoferrina de acuerdo con el tipo de leche y el peso de la paciente donadora. 1. Calostro (línea continua, puntos), 2. Leche de transición (línea guión largo discontinua, cuadrados) y 3. Leche madura (línea guión corto discontinua, diamantes).

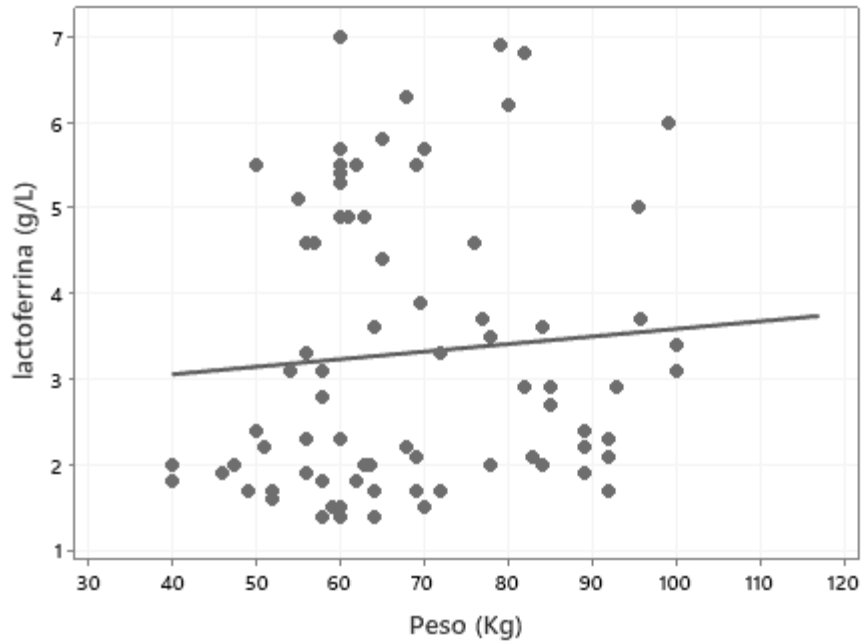


Figura 7. Gráfico de línea ajustado para la concentración de lactoferrina de acuerdo con el peso de la paciente donadora.

$S=1.64162$, $R-Sq$ 0.7%, $R-Sq(adj)$ 0.0%, $p=0.473$.

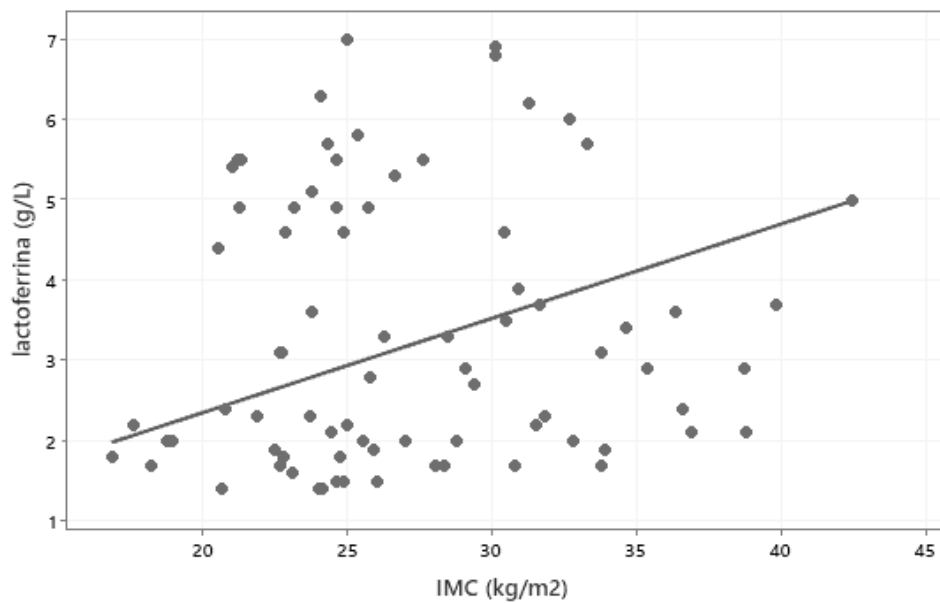


Figura 8. Gráfico de dispersión de la concentración de lactoferrina de acuerdo con el IMC (kg/m²) de la participante donadora de la leche materna.

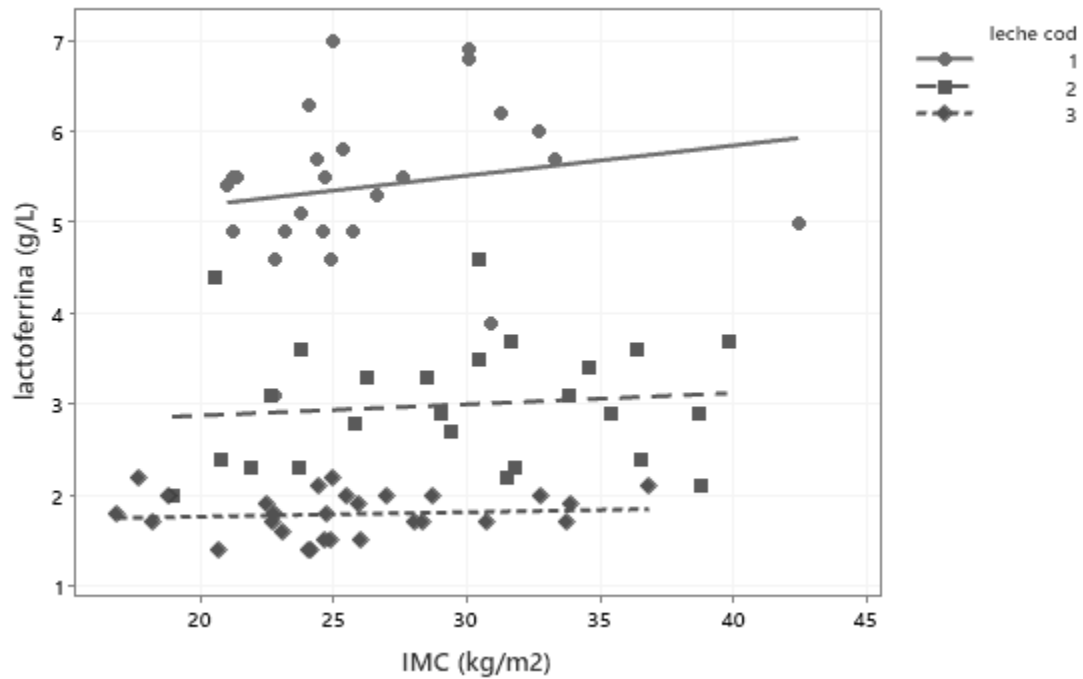


Figura 9. Gráfico de dispersión de la concentración de lactoferrina de acuerdo con el tipo de leche y el IMC (kg/m²) de la paciente donadora. 1. Calostro (línea continua, puntos), 2. Leche de transición (línea guión largo discontinua, cuadrados) y 3. Leche madura (línea guión corto discontinua, diamantes).

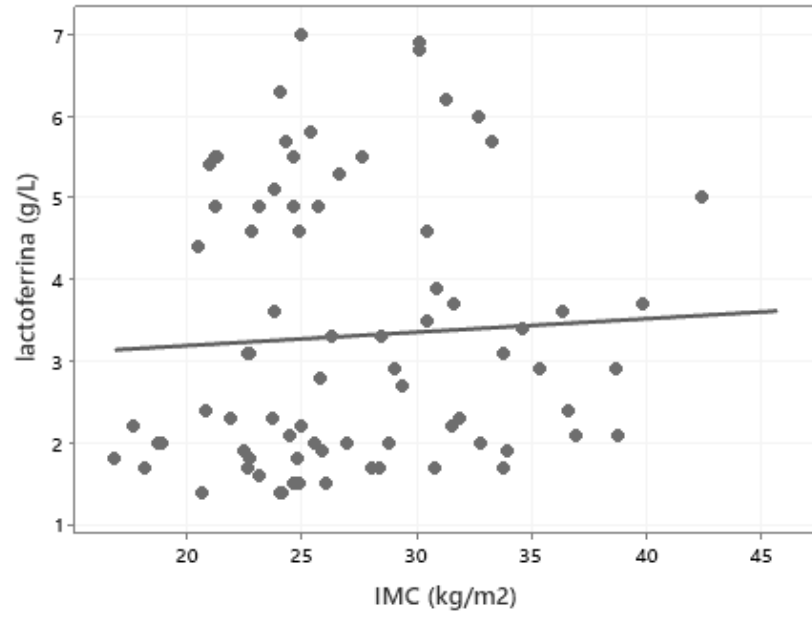


Figura 10. Gráfico de línea ajustada para la concentración de lactoferrina de acuerdo con la edad de la paciente donadora. $S=1.64443$, $R-Sq$ 0.3%, $R-Sq(adj)$ 0.0%, $p=0.617$.

Capítulo 5. Análisis y discusión

Como ya se ha comentado anteriormente, la leche materna, es un producto vivo de gran complejidad biológica, que cumple todos los requerimientos nutricionales del recién nacido (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018). Por sus cualidades protectoras, inmunomoduladoras y nutrimentales, representa el estándar de oro de alimentación y nutrición de todo recién nacido y lactante (Moro et al., 2019).

Constituida por nutrimentos, sustancias inmunológicas, hormonas, enzimas, factores de crecimiento y células inmunoprotectoras (García, 2011), la leche materna representa la única sustancia bioactiva esencial para el desarrollo del sistema inmune y digestivo inmaduro del recién nacido (Salamanca et al., 2019). Siendo ideal su composición para el crecimiento, desarrollo y maduración del lactante durante los primeros meses de vida (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018).

La leche materna, se encuentra químicamente constituida por: carbohidratos, lípidos y proteínas (Garwolińska, Namieśnik, Kot-Wasik, Hewelt-Belka, 2018). Perteneciendo a esta última fracción, la lactoferrina; proteína dominante en la leche materna, multifuncional por las diversas propiedades clínicas que exhibe, entre las que destacan: sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antibacterianos, antivirales, antifúngicos e inmunomoduladores (Agüero, Quijada y García, 2008).

Por sus características, hoy en día ha despertado gran interés el estudio de la amplia gama de efectos biológicos que posee, y los diversos mecanismos que contribuyen con su capacidad de acción, no sólo en el tratamiento, sino en la prevención de enfermedades en el recién nacido y el lactante (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005).

Motivo por el cual se han desarrollado a largo del tiempo, múltiples estudios que han buscado documentar a través de ensayos clínicos, no sólo los mecanismos directos e indirectos a través de los cuales esta proteína, ejerce su acción inmunoprotectora (Rodríguez, Vázquez y Ramos, 2005). Sino la búsqueda de factores maternos y perinatales que influyan en la variabilidad de concentración de esta proteína.

Un estudio realizado por Zheyu Yang, (2018) propuso documentar los cambios presentes en la Lactoferrina a lo largo de la lactancia, y la búsqueda de los factores asociados a la variación en su concentración en una población China.

En dicho estudio participaron 6481 mujeres lactantes sanas de diversas regiones geográficas de China, investigación la cual se llevó a cabo de manera dirigida a través de una comparación de las medias de concentración de lactoferrina con sus diversas variables, obteniendo como resultado que las concentraciones de Lf en leche materna cambian de manera dinámica durante las diversas etapas de la lactancia (Yang et al., 2018). Relación estadísticamente significativa con nuestro estudio.

Otra revisión sistemática, titulada “Factores que afectan la concentración de lactoferrina en la leche humana: ¿cuánto sabemos?”, llevada a cabo en el año 2017, por el autor Aasith Villavicencio, el cual documentó un metaanálisis de la literatura, que incluyó

70 artículos de divulgación científica, acerca de los cambios longitudinales que posee la concentración de LF en la leche de madres de todo el mundo y los factores asociados en su expresión.

Investigación clínica de gran contribución científica, por su multiculturalidad, la cual permitió un abordaje sistemático e integral de la evidencia clínica existente hasta el día de hoy. A través de la evaluación de los principales factores intrínsecos y extrínsecos implicados en la variabilidad de su concentración, su eficacia y el prometedor efecto que posee en la prevención y reducción de la morbimortalidad infantil.

Revisión sistemática, la cual concluye que la etapa de la lactancia es el factor que más modifica la concentración de Lf, encontrando una diferencia significativa en sus titulaciones durante sus diversas etapas. Destacando que la concentración más alta de Lf estuvo presente en el calostro (Villavicencio et al., 2017). Resultados consistentes al presente estudio, el cual reportó que los niveles de concentración de lactoferrina fueron diferentes en cada una de las etapas de la lactancia materna, encontrándose una mayor proporción en el calostro.

Planteándose como teoría que estas altas concentraciones de Lf presentes en la lactancia temprana guardan relación directa con el rápido desarrollo que demanda la inmadurez del sistema inmune y digestivo del recién nacido (Salamanca et al., 2019).

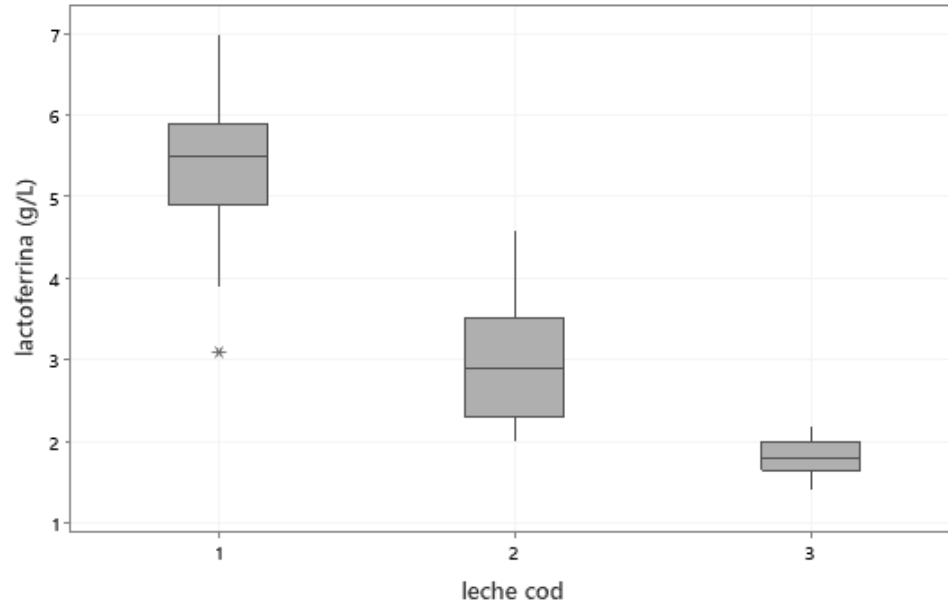


Figura 1. *Concentración de lactoferrina (g/L) de acuerdo con el tipo de leche materna. 1. Calostro, 2. Leche de transición y 3. Leche madura.*

De igual forma, Yang y colaboradores, documentaron que la leche de madres de recién nacidos pretérmino, mostró mayores tasas de concentración durante todo el curso de la lactancia, respecto a leche de madres con recién nacidos a término (Yang et al., 2018). Enfatizando la importancia que posee el prematuro de mayores concentraciones de Lf que le confieran protección inmunológica para hacer frente a su mayor incidencia de morbimortalidad e inmadurez (Riskin et al., 2012). Sin embargo, en nuestro estudio, las concentraciones de Lf en muestras de leche de madres con hijos pretérmino, no fueron mayores respecto al resto de las muestras en la misma fase.

Del mismo modo, documentaron que la concentración más alta de lactoferrina se encontró en leche de madres con edades gestacionales menores a las 28 semanas, respecto a aquellas con edades gestacionales posteriores (Yang et al., 2018). En este

estudio, se obtuvieron dos muestras de leche de madres con edades gestacionales menores a las 28 SDG, en fase de transición, sin encontrar diferencias significativas respecto al resto de las muestras de leche de la misma fase.

De igual forma, dicho estudio evidenció que factores tales como: la edad materna, el IMC, la vía de parto, la paridad, el nivel de albúmina sérica materna y la ingesta de proteínas no se correlacionaron con la concentración de Lf en la leche (Yang et al., 2018). En el presente estudio se evaluó la relación existente entre el IMC (Kg/m²), el peso, la edad y los niveles de concentración de lactoferrina en leche materna. Observándose una tendencia positiva en la concentración de Lf en pacientes con un mayor IMC, un mayor peso y una mayor edad, sin embargo, esta relación no fue estadísticamente significativa en el análisis multivariable.

Por otra parte, Villavicencio, documentó en su metaanálisis no encontrar una clara asociación entre la variabilidad de concentración de Lf y la distribución geográfica (Villavicencio et al., 2017), reiterando la necesidad de implementar un mayor número de ensayos clínicos que evalúen su asociación con otros factores tales como: la raza, la etnia, el estado socioeconómico y/o el estado nutricional materno (Villavicencio et al., 2017). Acorde con dicho autor, en nuestro estudio no encontramos relación estadísticamente significativa con dichas variables, sin embargo, debemos considerar que el tamaño de la muestra es pequeño, por lo que incrementándolo sería posible encontrar un resultado válido que nos permita concluir con certeza la asociación o no de la concentración y las variables antes enunciadas.

En conclusión, a lo largo del tiempo se han desarrollado múltiples estudios cuyo interés ha sido el comprender los cambios dinámicos que presentan los niveles de Lf, frente a las diversas etapas de la lactancia y su asociación con distintas variables maternas. Sin existir hoy en día, resultados concluyentes al respecto, debido a la discrepancia presente entre los diferentes autores.

Acorde con lo anterior, el presente estudio participó en la búsqueda de factores asociados que intervienen en la biodisponibilidad y concentración de Lf presente en leche materna, a través del estudio y medición de Lf presente en leche donada por madres lactantes de un Hospital Regional de Alta Especialidad Materno Infantil del Noreste de México. Documentando asociaciones estadísticamente significativas con relación a estudios de otros países.

Destacando como objetivo principal de nuestro estudio, la documentación de factores modificables, con el fin de establecer estrategias de promoción, que permitan una intervención eficaz a través de la búsqueda, investigación, desarrollo e implementación de conductas que favorezcan la prevención y disminución de la morbimortalidad infantil.

Capítulo 6. Conclusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio son concordantes con la literatura existente hoy en día. Se determinó que sus concentraciones cambian de manera dinámica durante sus diferentes etapas y que la concentración más alta estuvo presente en la fase de calostro (Yang et al., 2018).

Yang y colaboradores, documentaron que la leche de madres de recién nacidos pretérmino, mostró mayores tasas de concentración durante todo el curso de la lactancia, respecto a la leche de madres con recién nacidos a término (Yang et al., 2018). Sin embargo, en nuestro estudio, las concentraciones de Lf en muestras de leche de madres con hijos pretérmino, no fueron mayores respecto al resto de las muestras en la misma fase.

Aunque en nuestro estudio no encontramos una relación estadísticamente significativa, se observó una tendencia positiva en la concentración de Lf en pacientes con mayor IMC, mayor peso y una mayor edad; motivo por el cual es posible que al replicarse este estudio con un muestreo probabilístico, se puedan obtener resultados diferentes que permitan concluir con mayor certeza la asociación o no de la concentración y las variables antes enunciadas.

Al no existir un valor de referencia estandarizado para los niveles de Lactoferrina en la población general, no sabemos si los valores obtenidos de nuestra población son normales o no, destacando la importancia de generar nuevos estudios que nos permitan conocer no solo los valores de referencia para la población sino la eficacia de su

bioactividad, y la correlación de éstas con la prevención y tratamiento de diversas enfermedades en el recién nacido y el lactante.

Referencias

1. Villavicencio, A., Rueda, M. S., Turin, C. G., & Ochoa, T. J. (2017). Factors affecting lactoferrin concentration in human milk: how much do we know?. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire*, 95(1), 12–21. <https://doi.org/10.1139/bcb-2016-0060>
2. Aceti, A., Cavallarin, L., Martini, S., Giribaldi, M., Vitali, F., Ambretti, S., Zambrini, V., & Corvaglia, L. (2020). Effect of Alternative Pasteurization Techniques on Human Milk's Bioactive Proteins. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 70(4), 508–512. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002598>
3. Queiroz, V. A., Assis, A. M., & R Júnior, H. (2013). Protective effect of human lactoferrin in the gastrointestinal tract. *Revista paulista de pediatria : orgao oficial da Sociedade de Pediatria de Sao Paulo*, 31(1), 90–95. <https://doi.org/10.1590/s0103-05822013000100015>
4. Anghel, L., Radulescu, A., & Erhan, R. V. (2018). Structural aspects of human lactoferrin in the iron-binding process studied by molecular dynamics and small-angle neutron scattering. *The European physical journal. E, Soft matter*, 41(9), 109. <https://doi.org/10.1140/epje/i2018-11720-x>
5. Brunser Tesarschü, Oscar. (2019). Leche Materna: Efectos de los oligosacáridos de la leche materna en el crecimiento y desarrollo de los lactantes (Parte 3). *Revista chilena de nutrición*, 46(5), 644-652. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000500644>
6. Calixto-González R, González-Jiménez MA, Bouchan-Valencia P, et al. Importancia clínica de la leche materna y transferencia de células inmunológicas al neonato. *Perinatol Reprod Hum*. 2011;25(2):109-114.

7. Cernadas, C. (2018). El calostro y la leche materna en el período neonatal. Sus beneficios siguen aumentando. *Arch Argent Pediatr*;116(4):234-235
8. Rodríguez-Franco DA, Vázquez-Moreno L, Ramos-Clamont MG. Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales. *Microbiología*. 2005;47(3-4):102-111.
9. Agüero E, Quijada P, García-Novo D. Adición de lactoferrina a las fórmulas de inicio. *An Pediatr Contin*. 2008;6:103-7
10. García-López, R. (2011). Composición e inmunología de la leche humana. *Acta Pediátrica de México*, 32, 223-230.
11. Liu, J., Li, B., Lee, C., Zhu, H., Zheng, S., & Pierro, A. (2019). Protective effects of lactoferrin on injured intestinal epithelial cells. *Journal of pediatric surgery*, 54(12), 2509–2513. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2019.08.046>
12. Madrazo de la Garza, J. (2017). Oligosacáridos de la leche humana. Crecimiento y desarrollo. *Acta Pediátrica de México*, 38(5), 295-298. doi:<http://dx.doi.org/10.18233/APM38No5pp295-2981468>
13. Maldonado, Lozano, J. (2014). Nuevos ingredientes en las fórmulas para lactantes nacidos a término (II): Nucleótidos, poliaminas, lactoferrina bovina, gangliósidos, B palmito y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. *Acta pediátrica española*, 72.

14. Martínez, B. (2005). Estudio comparativo de la leche de mujer con las leches artificiales. *Anales De Pediatría*, 03, 43-53.
15. Moro, G. E., Billeaud, C., Rachel, B., Calvo, J., Cavallarín, L., Christen, L., Escudervieco, D., Gaya, A., Lembo, D., Wesolowska, A., Arslanoglu, S., Barnett, D., Bertino, E., Boquien, C. Y., Gebauer, C., Grovslíen, A., Weaver, G. A., & Picaud, J. C. (2019). Processing of Donor Human Milk: Update and Recommendations From the European Milk Bank Association (EMBA). *Frontiers in pediatrics*, 7, 49. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00049>
16. Murata, M., Wakabayashi, H., Yamauchi, K., & Abe, F. (2013). Identification of milk proteins enhancing the antimicrobial activity of lactoferrin and lactoferricin. *Journal of dairy science*, 96(8), 4891–4898. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6612>
17. Ochoa, T. J., Mendoza, K., Carcamo, C., Zegarra, J., Bellomo, S., Jacobs, J., & Cossey, V. (2020). Is Mother's Own Milk Lactoferrin Intake Associated with Reduced Neonatal Sepsis, Necrotizing Enterocolitis, and Death?. *Neonatology*, 117(2), 167–174. <https://doi.org/10.1159/000505663>
18. BrunserTesarschü, Oscar. (2019). Leche Materna: Efectos de los oligosacáridos de la leche materna en el crecimiento y desarrollo de los lactantes (Parte 3). *Revista chilena de nutrición*, 46(5), 644-652. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000500644>

19. Gómez Gallego, C., Pérez Conesa, D., Bernal Cava, M.J., Periago Castón, M.J., & Ros Berruezo, G.. (2009). Compuestos funcionales de la leche materna. *Enfermería Global*, (16) de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412009000200020&lng=es&tlng=es.
20. Picaud, J. C., & Buffin, R. (2017). Human Milk-Treatment and Quality of Banked Human Milk. *Clinics in perinatology*, 44(1), 95–119. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2016.11.003>
21. Vitoria Miñana I. Oligosacáridos en la leche humana. *Acta Pediatr Esp* 2007; 65(3):129-133.
22. Salamanca-Grosso, Guillermo, Osorio-Tangarife, Mónica Patricia, & Romero-Acosta, Kevin Fernando. (2019). Calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche materna de madres donantes colombianas. *Revista chilena de nutrición*, 46(4), 409-419. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000400409>
23. Aguado-Santacruz, Gerardo A., Moreno-Gómez, Blanca, Jiménez-Francisco, Betzaida, García-Moya, Edmundo, & Preciado-Ortiz, Ricardo E.. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 9-21. Recuperado en 01 de febrero de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100004&lng=es&tlng=es.

24. Moradian, Fatemeh & Sharbafi, Ramisa & Rafiei, Alireza. (2014). Lactoferrin, Isolation, Purification and Antimicrobial Effects. *Journal of Medical and Bioengineering*. 3. 203-206. [10.12720/jomb.3.3.203-206](https://doi.org/10.12720/jomb.3.3.203-206).
25. Álvarez de Acosta, Thais, Cluet de Rodríguez, Isabel, Rossell Pineda, María, Valbuena, Emiro, Ugueto, Eva, & Acosta, Laura. (2013). Macronutrientes en la leche madura de madres adolescentes y adultas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(1), 46-52. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222013000100006&lng=es&tlng=es.
26. Gudiel-Urbano, Montserrat, & Goñi, Isabel. (2001). Oligosacáridos de la leche humana: Papel en la salud y en el desarrollo del lactante. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(4), 332-339. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222001000400002&lng=es&tlng=es.
27. Vásquez-Garibay (2016). Primer año de vida. Leche humana y sucedáneos de la leche humana. *Gaceta Médica de México*. 152:13-21.
28. Woodman, T., Strunk, T., Patole, S., Hartmann, B., Simmer, K., & Currie, A. (2018). Effects of lactoferrin on neonatal pathogens and *Bifidobacterium breve* in human breast milk. *Plos one*, 13 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201819>
29. Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric clinics of North America*, 60(1), 49-74. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2012.10.002>

30. Breakey, A. A., Hinde, K., Valeggia, C. R., Sinofsky, A., & Ellison, P. T. (2015). Illness in breastfeeding infants relates to concentration of lactoferrin and secretory Immunoglobulin A in mother's milk. *Evolution, medicine, and public health*, 2015(1), 21–31. <https://doi.org/10.1093/emph/eov002>
31. Aguilar Cordero, María José, Baena García, Laura, Sánchez López, Antonio Manuel, Guisado Barrilao, Rafael, Hermoso Rodríguez, Enrique, & Mur Villar, Norma. (2016). Beneficios inmunológicos de la leche humana para la madre y el niño: revisión sistemática. *Nutrición Hospitalaria*, 33(2), 482-493. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.526>
32. Yang, Z., Jiang, R., Chen, Q., Wang, J., Duan, Y., Pang, X., Jiang, S., Bi, Y., Zhang, H., Lönnerdal, B., Lai, J., & Yin, S. (2018). Concentration of Lactoferrin in Human Milk and Its Variation during Lactation in Different Chinese Populations. *Nutrients*, 10(9), 1235. <https://doi.org/10.3390/nu10091235>
33. Riskin, A., Almog, M., Peri, R., Halasz, K., Srugo, I., & Kessel, A. (2012). Changes in immunomodulatory constituents of human milk in response to active infection in the nursing infant. *Pediatric research*, 71(2), 220–225. <https://doi.org/10.1038/pr.2011.34>
34. Goldman, A. S., Garza, C., Nichols, B., Johnson, C. A., Smith, E. O., & Goldblum, R. M. (1982). Effects of prematurity on the immunologic system in human milk. *The Journal of pediatrics*, 101(6), 901–905. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(82\)80007-3](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(82)80007-3)

35. do Nascimento, M. B., & Issler, H. (2003). Breastfeeding: making the difference in the development, health and nutrition of term and preterm newborns. *Revista do Hospital das Clinicas*, 58(1), 49–60. <https://doi.org/10.1590/s0041-87812003000100010>
36. Garwolińska, D., Namieśnik, J., Kot-Wasik, A., & Hewelt-Belka, W. (2018). Chemistry of Human Breast Milk-A Comprehensive Review of the Composition and Role of Milk Metabolites in Child Development. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(45), 11881–11896. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04031>

-Lugar de realización del Internado de pregrado:

Hospital Metropolitano Dr. Bernardo Sepúlveda, Rotación de Medicina Interna
Hospital San José Tecnológico de Monterrey, Rotación de Medicina Interna
Hospital Zambrano Hellion, Rotación de Medicina Interna
Hospital Regional ISSSTE Monterrey, Rotación Cirugía
Hospital San José Tecnológico de Monterrey, Rotación Cirugía
Hospital Metropolitano Dr. Bernardo Sepúlveda, Rotación Cirugía
Hospital Regional Materno Infantil, Nuevo León, Rotación Ginecología y obstetricia
Hospital San José Tecnológico de Monterrey, Rotación Ginecología
y obstetricia
Hospital Metropolitano Dr. Bernardo Sepúlveda, Rotación Ginecología y obstetricia
Hospital Regional Materno Infantil, Nuevo León, Rotación de Pediatría
Hospital San José Tecnológico de Monterrey, Rotación de Pediatría
Hospital Zambrano Hellion, Rotación de Pediatría
Hospital Zambrano Hellion, Optativa Medicina Interna
Hospital Zambrano Hellion, Optativa Ginecología y Obstetricia
Hospital Regional Materno Infantil, Nuevo León, Optativa Ginecología y Obstetricia
Clínica Nova, Rotación de Dermatología
Hospital Christus Muguerza Obispado, Rotación de Dermatología
Clínica Nova, Rotación de Neurología
Hospital Psiquiátrico Monterrey, Rotación de Psiquiatría
Hospital de Nutrición Salvador Subirán México D.F Rotación de Urgencias
Hospital Médica Sur D.F Rotación Traumatología
Hospital Médica Sur D.F Rotación Radiología
Hospital Universitario La Paz, Madrid España Rotación Medicina Interna
Hospital Universitario La Paz, Madrid España Rotación Endocrinología
Hospital Universitario La Paz, Madrid España Rotación Clínica de Diabetes

-Lugar de realización del servicio social: Instituto Nuevo Amanecer

-Modalidad de titulación: CENEVAL y promedio de carrera.

C. ASISTENCIA A CURSOS, CONGRESOS Y REUNIONES ACADÉMICAS:

- Diplomado de Preparación para el Examen de Residencias Médicas por el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (año 2015)
- Curso Lactancia Materna, impartido por Secretaría de Salud de Nuevo León (año 2017)
- Soporte Vital Avanzado Pediátrico PALS por American Academy of Pediatrics (año 2017)
- Improvement capability, patient safety, leadership, person and family centered care, triple aim for populations and quality by Institute for Healthcare Improvement (año 2018)
- Congreso VI Jornadas de Actualización en Pediatría (año 2019)
- The Boston Children's Hospital Nutrition and Pediatric Care by Boston Children's Hospital (año 2020)

D. DOMINIO DE LENGUAS EXTRANJERAS:

-Idioma: inglés.

-Escritura: 80%.

-Lectura: 90%

-Conversación: 80%.

Certificación de Inglés por York University, Toronto Canadá (Diciembre 2012)