

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Postgrados

**Efectos de la Edad y del Estado Nutricional en las
Concentraciones de Aminoácidos libres en la Leche Materna de
Madres primíparas Adolescentes y Adultas**

Nancy Jeanneth Flores Lastra

**Tesis de Grado presentada como requisito para la obtención del Título de
Maestría en Alimentos y Nutrición**

Quito, mayo de 2012

Universidad San Francisco de Quito

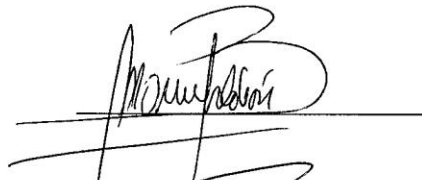
Colegio de Postgrados

HOJA DE APROBACION DE TESIS

Efectos de la Edad y del Estado Nutricional en las concentraciones de glutamato libre en la leche materna de madres primíparas adolescentes y adultas

Nancy Jeanneth Flores Lastra

Manuel E. Baldeón Ph.D.
**Director de tesis y
Miembro del Comité de Tesis**



Marco Fornasini, Ph.D.
Miembro del Comité de Tesis



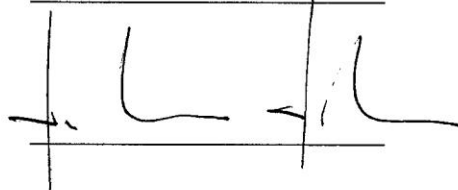
Lucía Ramírez, Ph.D.
**Directora de la Maestría en
Alimentos y Nutrición y
Miembro del Comité de Tesis**



Michael Koziol, D.Phil.
**Decano del Colegio de Agricultura,
Alimentos y Nutrición**



Víctor Viteri Breedy, Ph.D.
Decano del Colegio de Postgrados



Quito, mayo del 2012

**©Derechos de Autor
Nancy Jeanneth Flores Lastra
2012**

DEDICATORIA

A mis hijos, Daniel, Antonio y Francesco

A mis padres

A Enrico

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Manuel E. Baldeón, Ph.D., Director de Tesis, por todo su aporte en la realización de esta investigación, por su incansable ayuda, por su amistad.

Al Dr. Marco Fornasini, Ph.D., por su importante contribución en esta investigación, por constante ayuda y su amistad.

A todas las Instituciones que hicieron posible la realización de la investigación:

- Fundación Ajinomoto-Perú para el Desarrollo de la Comunidad
- Ajinomoto Japón Co. Inc., Institute of Life Science, Kawasaki, Japón
- IGTC (International Glutamate Technical Committee)
- Universidad San Francisco de Quito (CAAN-CCS)
- Hospital Gineco Obstétrico Isidro Ayora de Quito

Un especial agradecimiento a la Dra. Ana San Gabriel, miembro de Ajinomoto Co. Inc., quien es parte intelectual de este proyecto, por acertada ayuda y amistad.

A Estefanía Villegas, Daniela Villacís, estudiantes medicina USFQ quienes colaboraron en este estudio en todo momento.

A todo el personal docente y administrativo del CCS, en especial al personal del Laboratorio de Bioquímica y Nutrición

A todo el personal docente y administrativo de CAAN

A todas las madres participantes, pues sin ustedes no se hubiera podido realizar esta investigación.

Un sentido agradecimiento a todos los miembros de mi familia, pues sin su oportuna ayuda no se hubiera podido culminar este trabajo.

RESUMEN

El glutamato y glutamina libres en la leche materna contribuyen en el desarrollo del infante lactante. En la Región Andina y en países en vías de desarrollo, no se han presentado estudios donde se comparan las concentraciones de aminoácidos (AAL) presentes en la leche materna de madres adolescentes y adultas. Es por ello, que el presente trabajo compara las concentraciones de AAL en la leche materna de ambos grupos. Participaron voluntariamente, 39 madres adolescentes y 26 madres adultas del Hospital Gineco-Obstétrico Isidro Ayora de la ciudad de Quito- Ecuador. Las participantes fueron reclutadas dentro de los primeros 5 días después del parto y se hizo un seguimiento durante cuatro meses. Se realizó un análisis nutricional completo y las concentraciones de aminoácidos libres se midieron durante los cuatro períodos de lactancia (calostro (5 d), transición (15 d) y madura (2 y 4 meses)). Las características socio-demográficas en ambos grupos indican que ambos grupos son similares excepto en el nivel de escolaridad que es más bajo para las madres adolescentes. El análisis antropométrico no mostró diferencias significativas entre los grupos. En cuanto al consumo de nutrientes, las madres adultas consumen una significativa mayor cantidad de macronutrientes que las madres adolescentes. Al igual que en otros estudios similares realizados en madres adultas se encontró un perfil lipídico fuera de los rangos de normalidad después del parto, valores que se estabilizaron a los cuatro meses de lactancia. Sin embargo, la concentración de HDL fue significativamente menor en las madres lactantes adolescentes al inicio y al final del estudio. En cuanto a los AAL, se encontró que la concentración de AAL totales y no esenciales fue mayor en la leche de madres adultas a los cuatro meses de lactancia. Estas diferencias se deben principalmente a la elevada concentración de glutamato y glutamina. Este es el primer estudio en el cual se establecen diferencias entre las concentraciones de AA en leche materna de madres adolescentes y adultas. Se necesitan estudios adicionales para determinar si estas diferencias tienen implicaciones fisiológicas en el infante lactante.

ABSTRACT

Free glutamate and glutamine in breast milk contribute to the development of the lactating infant. There are no published studies that compare the concentrations of free amino acids (FAA) in the milk of adolescents and adult lactating mothers in developing countries. Accordingly, this study compared FAA concentrations in the milk of these two groups. Thirty-nine adolescent and 26 adult primiparous volunteers from Hospital Gineco-Obstétrico Isidro Ayora in Quito, Ecuador were invited to participate. Lactating mothers were contacted within the first 5 days post-partum and were followed for four months. A complete nutritional analysis was performed and FAA concentrations were measured at the beginning and at the end of the study. Data indicate that socio-demographic characteristics of both groups were similar except for the level of schooling, which was lower for adolescent mothers. Anthropometric analysis did not show significant differences between groups. Adult mothers consumed a significantly greater amount of macronutrients than adolescent mothers. Similar to previous studies, there was an abnormal lipid profile after birth that returned to normal by the fourth month of lactation only in adult mothers. The serum concentrations of HDL were significantly lower in adolescent lactating mothers. With respect to FFA concentrations in breast milk, total and non-essential FAA were higher in mature milk of adult lactating mothers. These differences were primarily due to the higher concentrations of glutamate and glutamine. This is the first study that establishes differences in the concentrations of FAA in breast milk of adolescents and adult lactating mothers. Further studies are needed to determine the physiological implications of these differences in the lactating infant.

TABLA DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
PARTE I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo General.....	4
1.2 Objetivos Específicos.....	4
1.3 Hipótesis.....	5
1.4 Ámbito de Estudio y Límites.....	5
FUNDAMENTO TEÓRICO.....	6
1.5 Lactancia Materna.....	6
1.6 Composición de la Leche materna.....	7
1.7 Componentes Inmunológicos de la Leche Materna.....	10
1.8 El Glutamato en la Leche Materna.....	12
1.9 El Glutamato de la Leche Materna y el Tracto Gastrointestinal del lactante.....	16
1.10 El Glutamato de la Leche Materna, la Microbiota y la Respuesta Inmune Intestinal.....	20

PARTE II.....	27
<i>CONCENTRACIONES DE AMINOÁCIDOS LIBRES EN LA LECHE MATERNA DE MADRES ADOLESCENTES Y ADULTAS.....</i>	<i>27</i>
INTRODUCCIÓN.....	27
METODOLOGÍA.....	30
2.1 Población de Estudio.....	30
2.1.1 Criterios de Inclusión.....	30
2.1.2 Criterios de Exclusión.....	31
2.2 Recolección de Datos.....	31
2.3 Procedimiento.....	32
2.3.1 Recolección de las muestras de Leche Materna.....	32
2.3.2 Recolección de las Muestras de Sangre.....	32
2.3.3 Recolección de las Medidas Antropométricas.....	33
2.3.4 Registro del Consumo de Alimentos.....	33
2.3.5 Preparación y Análisis de las muestras de Leche materna.....	33
2.3.6 Preparación y Análisis de las muestras de Sangre.....	34
2.3.7 Análisis de los Datos Antropométricos.....	34
2.3.8 Análisis del consumo de Alimentos.....	35
2.4 Cálculo de la muestra representativa y análisis estadístico de los datos.....	36

RESULTADOS	37
2.5 Características Demográficas.....	37
2.6 Estado Nutricional.....	38
2.6.1 Química Sanguínea.....	38
2.6.2 Antropometría.....	40
2.6.3 Consumo de Nutrientes.....	41
2.7 Aminoácidos en la Leche Materna.....	44
DISCUSIÓN	46
2.8 Características Demográficas.....	46
2.9 Estado Nutricional.....	48
2.10 Aminoácidos Libres en la leche Materna.....	50
3. CONCLUSIONES	53
4. RECOMENDACIONES	56
5. BIBLIOGRAFIA	58
6. GLOSARIO DE SIGLAS	67

7. LISTADO DE TABLAS

Tabla 1: Composición y Volumen de las Secreciones de la Glándula Mamaria en el primer mes después del parto.....	8
Tabla 2: Componentes de la Leche Materna.....	8
Tabla 3: Componentes Inmunes de la Leche Materna.....	11
Tabla 4: Importancia de la Microbiota intestinal.....	24
Tabla 5: Estado Nutricional para adultos mayores a 20 años.....	35
Tabla 6: Puntos de Corte para el IMC en mujeres adolescentes.....	35
Tabla 7: Características Demográficas.....	37
Tabla 8: Características Antropométricas de las madres y sus Bebés.....	39
Tabla 9: Resultados Química Sanguínea.....	40
Tabla 10 Consumo de Nutrientes.....	43
Tabla 11 Concentración de Aminoácidos libres en la Leche Materna.....	45

LISTADO DE ANEXOS.....	68
Anexo 1: Tarjeta de Identificación de las Madres Participantes.....	68
Anexo 2: Ficha Clínica de la Madre e hijo.....	69
Anexo 3: Recordatorio 24 Horas.....	70
Anexo 4: Protocolo para Precipitar Proteínas de la Leche.....	72
Anexo 5: IMC para la edad (5 a 19 años) (Puntuación-Z).....	73

LISTADO DE FIGURAS.....	74
Figura a: Secreciones producidas por la Glándula Mamaria.....	74
1. FIGURAS ANTROPOMETRIA.....	74
1.1 IMC Madres Adolescentes vs. Madres Adultas.....	74
1.2 Peso de los bebés de madres adolescentes vs Bebés de Madres Adultas.....	74
1.3 Perímetro Cefálico de los bebés de madres adolescentes vs Bebés de Madres Adultas.....	74
2. FIGURAS QUÍMICA SANGUÍNEA.....	75
2.1 Glucosa Séricos.....	75
2.2 Colesterol Total Sérico.....	75
2.3 Triglicéridos Séricos.....	76
2.4 LDL-C Sérico.....	76

2.5 HDL-C Sérico.....	77
2.6 Albúmina Sérica.....	77
2.7 Hierro Sérico.....	78
2.8 Calcio Sérico.....	78
2.9 Proteína Sérico.....	79
3. FIGURAS CONSUMO DE NUTRIENTES.....	80
3.1 Calorías Totales.....	80
3.2 Carbohidratos.....	80
3.3 Grasa.....	81
3.4 Proteína.....	81
3.5 Vitamina A.....	82
3.6 Vitamina D.....	82
3.7 Folato.....	83
3.8 Calcio.....	83
3.9 Hierro.....	84
3.10 Sodio.....	84

4. FIGURAS AMINOACIDOS LIBRES EN LA LECHE MATERNA.....	85
4.1 Aminoácidos Totales.....	85
4.2 Aminoácidos Esenciales.....	86
4.3 Aminoácidos No esenciales.....	86
4.4 Aminoácido Glutamina.....	87
4.5 Aminoácido Glutamato.....	87
4.6 Aminoácido Alanina.....	88
4.7 Aminoácido Serina.....	88
4.8 Aminoácido Taurina.....	89
4.9 Aminoácido Aspartato.....	89

PARTE I

INTRODUCCION

Organizaciones internacionales como la Organización Mundial de la Salud, promueven la implementación de políticas locales, regionales, y globales que favorecen la práctica de la lactancia materna (OMS-UNICEF, 2003). La estrategia global que apoya la lactancia materna está basada en muchos estudios científicos de varios años sobre este tema (OMS-UNICEF, 2003). Se debe permitir al infante alimentarse con leche materna dentro de la primera hora de vida, continuando hasta los seis meses y mantenerla hasta los 2 años o más, complementándola con una alimentación nutritiva (OMS, 2012). Solo así se garantiza el crecimiento, la salud y el desarrollo adecuados para el infante. Además de los componentes nutricionales necesarios para el crecimiento y desarrollo del lactante, contiene otros factores bioactivos que complementan los efectos beneficiosos de la leche materna (Castelloste, et al., 2011). De hecho, la leche materna provee al lactante de alimento y de protección inmunológica a un bajo costo en un medioambiente seguro. La composición de la leche en cada especie es específica, lo que significa que la leche de otras especies de mamíferos no es ideal para el consumo humano. La leche de vaca, por ejemplo, no se recomienda sino hasta que el infante tenga un año de edad.

La alimentación del lactante durante los primeros seis meses de vida con otro alimento distinto a la leche materna lo priva de su apropiada nutrición y lo pone en riesgo de malnutrición e infecciones (Zinkernagel, 2001).

El mejorar la salud materna y reducir la mortalidad infantil, constituye uno de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ONU, 2000). El inadecuado conocimiento sobre nutrición, los malos hábitos alimenticios antes, durante y después del embarazo y la falta de nutrientes

almacenados por la madre como soporte para una adecuada concepción, son factores que ponen en riesgo la salud de la madre y de su hijo. (Morán VH, 2007; Lenders CM et al., 2000). De hecho, para el año 2008 en el Ecuador, se registraron 140 muertes maternas por cada 100 mil nacidos vivos (CEPAL-STAT, Estadísticas).

Adicionalmente, la prevalencia de sobrepeso y la obesidad durante la adolescencia ha ido en aumento en los últimos años y esto podría potencialmente agravar el estado nutricional de una madre adolescente. El sobrepeso y la obesidad afectan negativamente el desarrollo gestacional y la lactancia (Brown, 2005).

Actualmente existen cerca de 7000 millones de personas en el mundo, de estas 1200 millones corresponden a los adolescentes entre 10 y 19 años de edad, lo que representa la población de adolescentes más grande que ha existido (UNFPA, Estado de la población, 2011). El 95% de los nacimientos a nivel mundial se da en madres adolescentes en América latina y el Caribe, es decir que de cada 1000 embarazos en esta región, 80 son de adolescentes entre 15 y 19 años. (OIJ-CEPAL, 2008; OMS, Boletín, 2009).

Para el 2010 se registraron en el Ecuador un 19.9% de nacimientos de madres adolescentes de entre 15 y 19 años (CEPAL-Ecuador, estadísticas, 2011, ENDEMAIN, 2004) al igual que en otros países subdesarrollados (Cevallos, et al., 2007; UNFPA-Ecuador, 2008). El Hospital Gineco-Obstétrico (HGO) Isidro Ayora de la ciudad de Quito, para el 2010 reportó que el 27.10% de nacimientos fueron de madres adolescentes y el 72.90% de madres adultas entre 19 y 36 años de edad. (HGO-Estadísticas, 2010).

La interacción de factores como el estado nutricional, la edad, la salud y las prácticas de lactancia de las madres, son otras condiciones que influyen en el normal desarrollo del

embarazo. Existe una mayor tendencia a que los niños nacidos de una madre adolescente mueran durante el primer mes de su vida (OPS, Salud en las Américas, 2007) debido a enfermedades como neumonía, influenza, sepsis bacteriana, infecciones respiratorias e intestinales, malnutrición, anemia entre otras. (OPS, Salud en las Américas, 2007). En el Ecuador para el año 2010, se registró la tasa de mortalidad infantil en un 15% por cada mil infantes mujeres nacidas vivas y en un 20% por cada mil infantes hombres nacidos vivos (CEPAL-Ecuador, 2010).

Factores como la falta de control durante el embarazo, abortos clandestinos, Infecciones de Transmisión sexual (ITS), infecciones a las vías urinarias, preclamsia, partos prematuros, muerte perinatal y materna, son algunos de los problemas que se presentan durante el embarazo y las madres adolescentes tienen mayor riesgo de sufrirlos. (Ramírez et. al., 2007)

Existe mucha evidencia que indica que la lactancia materna es el medio más efectivo para promover la supervivencia del infante. La alimentación con leche materna disminuye la incidencia de infecciones agudas y protege al infante de enfermedades comunes de la infancia como infecciones agudas gastrointestinales y respiratorias (Allen LH, 1994). Se estima que la lactancia materna previene el 13% de las 10.6 millones de muertes en niños menores de 5 años alrededor de todo el mundo cada año (Udipi, et al., 2000). Sin embargo, solamente el 73% de las madres les dan de lactar a sus hijos durante la primera hora de nacidos, y disminuye a un 49% hasta los 3 meses y a un 39.6% hasta los 6 meses de vida. (OMS, 2007).

El desarrollo de un embarazo y lactancia normales dependerán del estado nutricional óptimo de la madre (Allen LH, 1994). La gestación y la lactancia son dos fenómenos que requieren una elevada demanda nutricional y el estado nutricional del infante dependerá de la salud de la madre. La madre lactante es más propensa a experimentar un déficit de macronutrientes y micronutrientes debido a la alta demanda metabólica que conlleva la lactancia. Cuando el consumo dietético diario de la madre es inadecuado, la composición y el volumen de leche materna se ven afectados negativamente y por lo tanto la salud y de desarrollo del infante lactante (Chierci, et al., 1999; Allen LH, 1994). Por consiguiente, las buenas prácticas nutricionales de la madre garantizan la cantidad y calidad de la leche materna a lo largo del tiempo (Mannion, et al., 2008; Rakicioglu, et al., 2006; ETTYANG, et al., 2005).

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración de Glutamato libre en leche materna durante cuatro periodos de lactancia en madres primíparas adolescentes y adultas del Hospital Gineco Obstétrico (HGO) Isidro Ayora de la ciudad de Quito.

1.2 Objetivos Específicos

- Analizar la concentración de aminoácidos libres en la leche materna en cuatro períodos de lactancia (calostro 1-5 días, transición 15 días y madura a los 2 meses y 4 meses) de madres primíparas adolescentes y adultas.
- Determinar si la edad influye en la concentración de aminoácidos libres presentes en la leche materna de madres primíparas adolescentes y adultas.

1.3 Hipótesis

La hipótesis del estudio sostiene que la menor edad de la madre afecta negativamente la concentración de glutamato libre en la leche materna.

1.4 Ámbito de Estudios y Límites

En nuestro país existe muy poca información acerca de los beneficios del glutamato y el desarrollo del infante y en general del contenido de aminoácidos en la leche materna y sus beneficios para el niño lactante. Con ésta investigación se genera información nueva que podría ser utilizada para realizar futuras investigaciones en este campo. Por otro lado deja claramente sentada la importancia de la lactancia materna en los primeros meses de vida del infante, tanto para la salud de la madre, como para el niño alimentado con leche materna.

Las fórmulas infantiles utilizadas en la actualidad, tratan de parecerse a la composición de la leche materna. La concentración de aminoácidos libres, especialmente glutamato, glutamina y taurina en la leche materna presentan una concentración mucho más elevada que la concentración de estos aminoácidos en todas las fórmulas han sido estudiadas. (Chuang et al., 2005). Por lo tanto, se podría plantear la idea de reformular las fórmulas infantiles actuales, para representar mejor la composición de los aminoácidos libres presentes en la leche materna pues éstos contribuyen al desarrollo óptimo de importantes funciones fisiológicas en el lactante.

Una limitación del estudio es demostrar que la malnutrición materna daría como resultado una disminución del volumen de leche materna y que dicha disminución de la secreción de leche afectaría directamente el contenido de aminoácidos libres en la leche materna.

FUNDAMENTO TEÓRICO

1.5 Lactancia Materna

La leche materna asegura la salud y supervivencia del infante (OMS, Lactancia exclusiva, 2011). La protección inmunológica obtenida de la leche, le proporciona al infante defensas contra las enfermedades más comunes de la infancia como la diarrea, influenza, neumonía, meningitis, enterocolitis necrotizante, infecciones del tracto urinario y respiratorio, entre otras y le asegura al infante salud y supervivencia (Hanson, 2007; AAP, 2005). Actualmente, dichas enfermedades son las causantes de más de un millón de muertes infantiles anuales (OMS, Lactancia exclusiva, 2011). Los factores inmunológicos presentes en la leche materna, protegen al infante de agentes patogénicos mortales. Además posee componentes celulares y hormonas que parecen regular la respuesta inmune del infante, reduciendo la incidencia a infecciones, autoinmunidad y alergias (Ying Huang, et al. 2003, Grosvenor, et al., 1993).

La leche materna contiene, además, componentes inmuno-moduladores que no están presentes en ninguna de las fórmulas infantiles artificiales disponibles actualmente. Como se dijo anteriormente, los componentes inmunes protegen al infante de infecciones, y modulan la respuesta inmune intestinal limitando el proceso inflamatorio a “alimentos exógenos” así como también a la microbiota intestinal (Riveron, 1998). Además, contiene componentes humorales y celulares cuya función es proteger al lactante de microorganismos externos, bacterias, virus y parásitos (Riveron, 1998). La leche materna posee una variedad de proteínas, que al ser una fuente importante de aminoácidos aseguran el crecimiento adecuado del infante (Lönnerdal, 2003). Proporciona además, factores de crecimiento que regulan el desarrollo de la mucosa intestinal, actuando como barrera a

elementos patógenos externos y regula la respuesta inmune en la mucosa del lactante (Lönnnerdal, 2003), es por ello que la leche materna es el mejor alimento para el infante proporcionándole una nutrición completa.

1.6 Composición de la Leche Materna

Las secreciones que se producen en la glándula mamaria tienen una composición cambiante que se ajusta a las necesidades del lactante durante su crecimiento en los primeros meses de vida. El fluido que comienza a producirse alrededor del parto se denomina calostro y es producido hasta los primeros siete días después del nacimiento. Después de este período, este fluido cambia en consistencia y composición, y se le denomina leche de transición que se produce por aproximadamente quince días, tiempo a partir del cual la glándula mamaria produce leche madura (Lawrence, 2007).

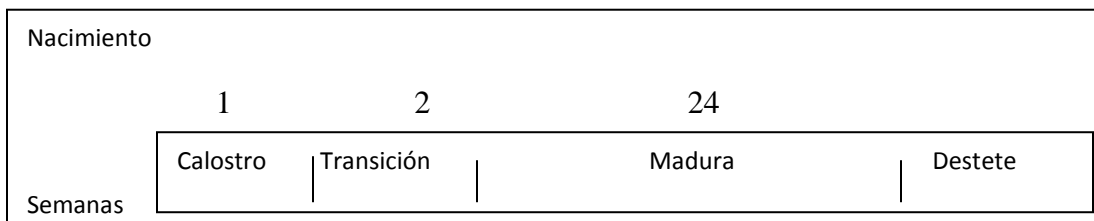


Figura a: Secreciones producidas por la Glándula Mamaria

El calostro es un fluido espeso y amarillento que provee aproximadamente 67 Kcal/100mL. La Tabla 1 resume los cambios en el tiempo de la composición de las secreciones mamarias, incluido el calostro. El calostro tiene altas concentraciones de aminoácidos libres, proteínas, e inmunoglobulinas (Ig), es rico en vitaminas liposolubles como A y E, y su contenido es bajo en grasas y lactosa. El calostro facilita la expulsión del meconio,

provee al lactante de abundantes anticuerpos, antioxidantes, e inicia el establecimiento de la microbiota intestinal.

Tabla 1. Composición y Volumen de las Secreciones de la Glándula Mamaria en el primer mes después del parto

Composición	Días postparto						
	1	2	3	4	5	14	28
Proteínas (g/dl)	32	17	12	11	11	8	9
Lípidos (g/dl)	12	15	20	25	24	23	29
Carbohidratos (lactosa) (g/dl)	20	25	31	32	33	35	35
Volumen (ml/día)	50	190	400	625	700	1100	1250

Fuente: Modificada de Lawrence R., 2007

La leche de transición se produce luego del calostro por aproximadamente dos semanas. En esta leche las concentraciones de lactosa, grasa y vitaminas hidrosolubles aumentan, y los niveles de inmunoglobulinas, proteínas y vitaminas liposolubles disminuyen (Tabla 1). La leche que se produce después de este periodo se llama leche madura, aporta aproximadamente 75 Kcal/100mL y su composición es bastante estable (Tabla 2).

Tabla 2 Composición de la Leche Madura

	Componentes	Contenido
Fase Acuosa		
Solución acuosa y suero	Ca, Mg, Na, K, Cl, fosfatos, citrato, caseína	87%
	α -lactoalbúmina, lactoferrina, Ig A, lisozimas, seroalbúmina, lactosa, oligosacáridos, nitrógeno no proteico: glucosamina, urea, glutamato	
	Vitaminas del complejo B, ácido ascórbico	
Fase coloidal	Caseínas, Ca, fosfatos	0.30%

Emulsión: Glóbulos de grasa	Triglicéridos, ésteres de colesterol	4%
Interfase: Membrana de los Glóbulos de grasa	Proteínas, fosfolípidos, colesterol, enzimas, oligoelementos, vitaminas liposolubles	2%
Células	Macrófagos, neutrófilos, linfocitos, células epiteliales	1x10 ⁶ /mL
Macronutrientes (g/L)	Carbohidratos	72
	Proteínas	10
Micronutrientes (mg/L)	Grasas	39
	Calcio	280
	Cloro	420
	Magnesio	35
	Fosforo	140
	Potasio	525
Elementos traza (ug/L)	Hierro	300
	Cobre	250
	Zinc	1200
	Yodo	110
	Cromo	50
	Manganeso	6
	Selenio	20
Vitaminas (mg/L)		
Liposolubles	A	670
	D	55
	E	2300
	K	2,1
Hidrosolubles	B6	93000
	B12	0,97
	Biotina	4
	B1	210
	Riboflavina	350
	B3	1500
	B5	1800
	Vitamina C	40000
	Folato	85
Otras Proteínas (mg/L)	IgA	50-100
	IgM	2
	IgG	1
	Lactoferrina	100-300
	Lisosimas	5.0-25.0
	Lactoalbúmina	200-300
	Caseína	200-300

Fuente: Modificado de Polin R.A., et al., 2004, y Lawrence R., 2007

En la leche madura, los carbohidratos (42%) y los lípidos (50%) proveen la mayoría de la energía. La leche materna es rica en ácidos grasos esenciales, ácidos linoleico y linolénico que tienen un papel importante en el desarrollo cerebral y del sistema inmune de los lactantes (Sherman, 2000). Por otro lado, las proteínas de la leche son fuente de aminoácidos y contribuyen a la digestión y absorción de los otros nutrientes por acción de enzimas como la amilasa, lipasa, lactoferrina, haptocorrina, y β -caseína. La mayoría de las proteínas presentes en la leche se sintetizan en la glándula mamaria y otras como la albúmina provienen de la sangre materna. El contenido proteico de la leche cambia con el tiempo: durante la lactancia temprana la concentración de proteínas está entre 14 - 16 g/L mientras que seis meses después del nacimiento su concentración es de 7 - 8 g/L. Es interesante anotar que no todas las proteínas de la leche se digieren completamente en el intestino del lactante; algunas son parcialmente procesadas o mantienen intacta su estructura debido a que estas cumplen importantes funciones en el crecimiento y desarrollo intestinales y también mantienen propiedades inmunológicas como las de la lactoferrina y la inmunoglobulina A (Ward et al., 2002).

1.7 Componentes Inmunológicos de la Leche Materna

Además de suplir las necesidades nutricionales, la leche materna provee protección inmunológica al lactante, propiedad que ha motivado muchas investigaciones en los últimos años (Mataix Verdú J, 2006). Son numerosas las células y los factores inmunológicos que proveen protección contra infecciones (Tabla 3). Estos componentes producen una cascada de efectos que ayudan al desarrollo y funcionamiento del sistema inmune del lactante (Castellote et al., 2011). Se estima que la leche materna contiene aproximadamente 1×10^6 células/ mL y La mayoría de sus células son polimorfonucleares y macrófagos que

fagocitan y matan microbios como *Cándida*, *Clostridium difficile* y *Klebsiella* (Mataix Verdú J, 2006). El segundo grupo de células más importante son los linfocitos, como los productores de inmunoglobulinas, linfocitos B, y los linfocitos T; estos últimos son los más abundantes (Tabla 3). Los linfocitos T de la leche son células de memoria que pueden ser fácilmente activados. Por otro lado, los linfocitos B de la leche producen IgA que protege directamente al lactante. Otros péptidos solubles con actividad antimicrobiana e inmunológica de la leche incluyen a la lactoferrina, lactoperoxidasa, lisozyima y a la N-acetil-B-D-glucosaminidasa, citosinas, interferones, entre otros (Lönnerdal, 2003). La leche materna provee de agentes antimicrobianos, antiinflamatorios e inmunoregulatorios que favorecen el crecimiento y desarrollo del recién nacido y lo protege a largo plazo de enfermedades infecciosas durante la infancia. (Goldman, 2007).

Tabla 3. Componentes Inmunes de la Leche Materna

Componentes	Número aproximado o concentraciones
Células	1 X 10 ⁶ /mL
Macrófagos	75% de células mononucleares
Linfocitos	25% de células mononucleares
Linfocitos B: IgG, IgA, IgM	20% de los linfocitos
Linfocitos T	80% de los linfocitos
Citosinas	
Interleucinas	
IL-1b	1130 pg/mL
IL-6	150 pg/mL

Interferones	
IFN- γ	400 ng/mL
Otros	
TNF- α	600 pg/mL

Fuente: Modificado de Baldeón et al., 2000

La leche materna es el medio más importante de inmunidad pasiva para el recién nacido (Field, 2005). Sus proteínas incrementan la función inmune e inhiben infecciones causadas por virus, bacterias, y hongos. La IgA al ligarse al antígeno microbiano específico, bloquea su adhesión, produce fagocitosis, activa la respuesta inmune local y lo elimina, sin afectar la colonización normal de la microbiota intestinal (Castellote et al., 2011). La IgA también inactiva entero-toxinas e interfiere con la absorción de antígenos potencialmente dañinos de los alimentos, contribuyendo con su eliminación (Mataix Verdú J, 2006). Además, se han identificado IgA en la leche materna contra patógenos muy comunes como *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Vibrio cholerae*. Otra proteína con propiedades antimicrobianas de amplio espectro es la lactoferrina. Estudios *in vitro* e *in vivo* demuestran que la lactoferrina tiene propiedades anti-microbianas contra *E. coli*, *Streptococcus*, *H. Pylori*, *S. aureus*, virus del herpes, virus de la hepatitis C, rotavirus, y virus de la inmunodeficiencia humana (Newburg et al., 1997). Estos datos demuestran que la leche materna provee varias formas de protección inmunológica al lactante.

1.8 El Glutamato en la Leche Materna

Además de los nutrientes y de los factores inmunológicos que ya se ha indicado anteriormente, la leche materna contiene una proporción alta de sustancias que conforman

el llamado nitrógeno no proteico (NNP). Estudios demuestran que varios de estos compuestos, como los aminoácidos libres, influyen en el crecimiento y desarrollo del intestino del lactante (Koletzko et al., 1998). La abundancia de los aminoácidos libres es cambiante en el tiempo: son más abundantes temprano en la lactancia, excepto por el glutamato y la glutamina cuyas concentraciones se incrementan con el progreso de la lactancia (Agostoni et al., 2000a). Las concentraciones de glutamato y glutamina se incrementan durante la lactancia y llegan a constituir aproximadamente el 50% de los amino ácidos libres de la leche a los tres meses después de iniciada la lactancia (Agostoni et al., 2000a). El glutamato, precursor de la glutamina, es el aminoácido más abundante de la leche materna (Singh et al., 2004; Spitzer, 1996). El lactante está expuesto continuamente a concentraciones crecientes de glutamato y glutamina y estos aminoácidos ejercerían un rol importante en el desarrollo, mantenimiento del intestino y del bienestar del infante (Agostoni et al., 2000a).

Las altas concentraciones de ácido glutámico libre en la leche materna podrían estar relacionadas con funciones fisiológicas importantes en el lactante (Neu, 2001).

Estudios de los años ochenta, diseñados para determinar las concentraciones de aminoácidos libres en la leche de madres que habían tenido sus hijos pre-término y a término, demostraron que las concentraciones de ácido glutámico y taurina son las más abundantes en la leche materna (Pamblanco et al., 1989). Estos estudios también indican que la leche de madres con niños pre-término presenta concentraciones más altas de ácido glutámico que la leche de madres con niños a término (Pamblanco et al., 1989). La concentración prominente de glutamato ha sido, desde entonces, asociada con funciones importantes a nivel intestinal como metabolismo energético y maduración intestinal (Pamblanco et al., 1989). Un reciente estudio sobre el contenido de glutamina en la leche

materna demostró que este aminoácido está presente en concentraciones similares tanto en la leche de madres con niños nacidos pre-término como en la leche de madres con niños nacidos a término y esto se mantuvo durante todo el periodo de lactancia (4960 vs. 5000 $\mu\text{mol/L}$ de leche respectivamente; Jochum F et al., 2006). Sin embargo, la concentración de glutamina libre se incrementó en la lactancia tardía posiblemente para contribuir al desarrollo intestinal por medio de la continua disponibilidad de este aminoácido (107 en la leche de transición a 291 $\mu\text{mol/L}$ en la leche madura; Jochum F et al., 2006). Los autores de ese estudio estimaron que un recién nacido de 3.5-Kg. de peso que consuma 500 mL de leche por día consumiría 370 mg/d de glutamina (la glutamina libre representa entre el 5 – 7% de la glutamina total de la leche; Jochum et al., 2006). Los mecanismos fisiológicos que regulan la síntesis y secreción de la glutamina en la glándula mamaria no han sido elucidados todavía. Este conocimiento será de mucha utilidad para evaluar el impacto de la glutamina en la fisiología y en los estados de enfermedad intestinal.

Investigaciones tempranas en los años cincuenta demostraron la importancia del ácido glutámico y la glutamina en la síntesis de las proteínas de la leche (Barry, 1956). Con el uso de glutamina y glutamato radioactivos, se demostró que la glutamina y el glutamato presentes en la caseína provenían de la glutamina y del glutamato libres del plasma sanguíneo materno (Barry, 1956). Desde entonces, muchos estudios han demostrado que los aminoácidos del plasma materno son extraídos por la glándula mamaria durante la lactancia (Viña et al., 1981a). Los carbonos del glutamato y la glutamina extraídos del plasma materno son entonces utilizados para la síntesis de ácidos grasos y proteínas de la leche, y algunos de estos aminoácidos aparecen en la leche materna como compuestos libres (Viña et al., 1981a; Viña et al., 1987; Viña et al., 1981b). Es importante señalar que las concentraciones de muchos aminoácidos libres presentes en la leche materna

disminuyen luego en un ayuno de aproximadamente 10 horas (ayuno durante el sueño nocturno) excepto las concentraciones de tirosina, aspartato, asparagina, glutamato y glutamina (Viña et al., 1987). Esto indicaría que en el ayuno, la disponibilidad y transporte de aminoácidos libres en la glándula mamaria disminuye, lo que resulta en una disminución de aminoácidos libres en la leche materna. Sin embargo, las concentraciones de aminoácidos con funciones fisiológicas importantes como el glutamato y la glutamina se mantienen. Esto indica que existen mecanismos locales que privilegian la síntesis y liberación de glutamato y glutamina en la leche materna para no interrumpir la administración continua de los mismos al lactante (Viña et al., 1987).

Las leches maternizadas disponibles en el mercado son diseñadas para imitar la composición de la leche materna en su contenido de macro y micro nutrientes. Pocos estudios han comparado la concentración de aminoácidos libres de las leches maternizadas comerciales con las concentraciones de estos aminoácidos en la leche materna (Chuang et al., 2005; Ferreira, 2003). Uno de estos estudios demostró que la concentración de aminoácidos libres de la leche materna fue significativamente más alta que la concentración de estos aminoácidos en todas las fórmulas estudiadas (8139 $\mu\text{mol/L}$ para la leche materna de niños pre-término; 3462 $\mu\text{mol/L}$ para la leche materna de niños a término; 720 $\mu\text{mol/L}$ para la fórmula A; 697 $\mu\text{mol/L}$ para la fórmula B; y 820 $\mu\text{mol/L}$ para la fórmula diseñada para niños pre-término; Chuang et al., 2005). Los aminoácidos esenciales y no esenciales estuvieron en concentraciones más altas en la leche materna que en las leches maternizadas (Chuang et al., 2005). El estudio también demostró que, aunque los aminoácidos más abundantes en la leche materna fueron el ácido glutámico y la taurina, las concentraciones de estos aminoácidos en las fórmulas infantiles no mantuvieron este patrón (Chuang et al., 2005). La diferencia en la composición de las leches maternizadas en cuanto a aminoácidos

libres como glutamato, glutamina y taurina, con relación a la leche materna, podrían alterar la protección de la mucosa intestinal del infante en niños que se alimentan con fórmulas comerciales (Agostoni et al., 2000b). Estos estudios indican que, aunque las fórmulas infantiles ahora disponibles tratan de imitar la composición de la leche materna, estas tienen que ser reformuladas para representar mejor la composición de los aminoácidos libres presentes en la leche materna. Por lo tanto, la leche materna es la mejor fuente de nutrición y protección inmune del lactante.

1.9 El Glutamato de la Leche Materna y el Tracto Gastrointestinal del Lactante

El glutamato cumple un papel esencial en el metabolismo humano (Melbourne et al., 2001). El glutamato es uno de los aminoácidos no esenciales más comunes que se hallan en la naturaleza. Es el principal componente de muchas proteínas y péptidos de la dieta y está presente básicamente en todos los tejidos del organismo. Como se ha indicado, también es uno de los aminoácidos libres más abundantes en la leche materna. El glutamato mantiene el crecimiento celular; tiene un papel importante en el flujo de energía entre tejidos; es un neurotransmisor excitatorio en el cerebro; contribuye al mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico en los riñones y forma parte del ciclo de la urea en el hígado; es el precursor de ácidos nucleicos para la síntesis de ADN; y es el sustrato más importante para la producción de energía de las células epiteliales intestinales (Marante et al., 2005; Reeds et al., 2000).

A nivel intestinal también, el glutamato es importante para la síntesis local de aminoácidos esenciales como la prolina y arginina. Como parte del glutatión, el glutamato actúa como agente anti-oxidante (Wu, 1998). Por lo indicado, el glutamato es un aminoácido indispensable para el normal funcionamiento del organismo.

Al momento de nacer, el tracto gastrointestinal de un ser humano debe estar capacitado para digerir y absorber los nutrientes de la leche materna, proteger al huésped de toxinas y patógenos microbianos y mantener el equilibrio hidro-electrolítico. El nacimiento determina que la nutrición para el mantenimiento del infante cambie drásticamente del transporte de nutrientes a través de la placenta y del consumo de líquido amniótico al consumo oral de la leche materna. Por ello, el estado estructural y funcional del intestino debe estar lo suficientemente desarrollado en un recién nacido (Commare et al., 2007).

El crecimiento y desarrollo del intestino en el periodo fetal y neonatal está finamente regulado. En el periodo neonatal, la maduración y crecimiento del aparato gastrointestinal están influenciados por varios factores fisiológicos y medioambientales. El líquido amniótico y la leche materna proveen factores tróficos necesarios para el intestino. Estos factores incluyen nutrientes, factores de crecimiento peptídico, hormonas peptídicas intestinales, esteroides, hormonas tiroideas, estímulos nerviosos. Otros compuestos en la leche que modulan el desarrollo intestinal son células inmunes y sus productos, oligosacáridos no digeribles que posibilitan el establecimiento de la microbiota intestinal (Burrin et al., 2002; Perin et al., 1995; Castellote et al., 2011). La colonización microbiana del intestino, por ejemplo, permite el desarrollo del tejido linfoide asociado al intestino (ver sección 1.11) que es un componente importante del sistema inmunológico del infante (de La Cochetière et al., 2007). Las células del mesénquima intestinal son también fuente de varios factores de crecimiento, como el factor de crecimiento para los fibroblastos, de crecimiento hepático, de crecimiento queratinocítico y factor de crecimiento insulínico (IGF-I). Del mismo modo, las células mesénquima también producen los componentes de la matriz extracelular como el colágeno, los proteoglicanos, necesarios para el mantenimiento y desarrollo intestinales. Los mecanismos por los cuales los factores

endógenos, como las hormonas, o exógenos, como los componentes de la dieta (leche materna) que regulan la maduración del intestino al nacimiento, han sido un área activa de investigación (Gree, 2001; Commare et al., 2007).

También, existe amplia evidencia que demuestra que los aminoácidos no esenciales como el glutamato y la glutamina contribuyen al funcionamiento metabólico de la mucosa intestinal (Reeds, 2001). Estos aminoácidos, además de contribuir en la generación de energía para el funcionamiento celular, son precursores de varias vías metabólicas para la síntesis de otros aminoácidos, nucleótidos, amino-azúcares, etc. (Reeds, 2001). En células especializadas en la absorción y secreción de sustancias, y con tiempo de vida corto como las células epiteliales intestinales, la generación de ADN y los productos de sus secreciones como la mucina obligatoriamente demandan compuestos o substratos que puedan producir energía y, al mismo tiempo, ser parte de la generación de nuevas células y sus productos como es el caso del glutamato y la glutamina. Es importante enfatizar que estos aminoácidos no esenciales, que se utilizan para el mantenimiento de la mucosa intestinal, provienen de la dieta, del plasma sanguíneo y además pueden ser generados dentro de las células de la mucosa intestinal (Reeds et al., 2000). Los aminoácidos libres presentes en la leche materna son fácilmente utilizables en el intestino porque pueden ser absorbidos rápidamente en el intestino de los lactantes. Los transportadores de glucosa y aminoácidos en las células epiteliales intestinales se forman en el periodo fetal y al nacimiento son completamente funcionales. El transporte de glutamato en el epitelio intestinal es sodio dependiente, lo que indica que se requiere la presencia de este sodio para su absorción. Esto es importante debido a la alta demanda de energía del lactante al momento del nacimiento. Si existen diferentes usos para los aminoácidos no esenciales producidos

localmente y para aquellos que llegan en la dieta o vía sanguínea, estos aún no se han establecido.

Una de las funciones importantes del epitelio intestinal es servir de barrera entre el contenido de la luz del intestino (gran número de microbios y antígenos) y la lámina propia de la pared del tubo digestivo (interior del organismo, incluidas las células inmunes). Esta barrera está conformada por una capa única de células epiteliales las mismas que están unidas entre sí por complejos proteicos que en su conjunto se denominan “tight junctions”. La función de barrera es posible debido a que las células caliciformes del epitelio y las fuertes uniones que ocurren entre estas células epiteliales, “tight junctions”, secretan activamente moco hacia la luz intestinal. El moco secretado limita la interacción de los componentes del contenido intestinal, alimentos y microorganismos con las células epiteliales facilitando su eliminación (Newburg et al., 2007). Se considera que las “tight junctions” forman parte del sistema inmune no específico y sirven para impedir el ingreso de los componentes intestinales hacia el interior del organismo. La glutamina tiene un papel importante tanto para la producción de moco como para el mantenimiento de las “tight junctions”, lo que permite que el epitelio intestinal cumpla con su función de barrera (Newburg et al., 2007; Li et al., 2004). En la formación del moco, la glutamina es necesaria para la síntesis de amino-azúcares como la N-acetilglucosamina y la N-acetilgalactosamina presentes en la matriz extracelular y en el moco intestinal. Por otro lado, la glutamina es necesaria para la expresión de las proteínas que forman las “tight junctions” que mantienen la estructura del epitelio intestinal (Li et al., 2004). Estos estudios indican que los aminoácidos no esenciales como el glutamato y la glutamina, además de servir como fuentes de energía, cumplen funciones específicas en la mucosa intestinal manteniendo su integridad (Li et al., 2004).

Estudios de complementación con glutamato o glutamina al alimento de lechones normales demuestran que la presencia de estos aminoácidos mejoran el comportamiento zootécnico en estos animales (Liu et al., 2002). La presencia de glutamato o glutamina mejora la morfología y función del intestino favoreciendo el crecimiento. Debido a las importantes funciones adscritas al glutamato y a la glutamina en la fisiología intestinal, varios estudios clínicos de complementación con estos aminoácidos se han realizado. Sin embargo, desafortunadamente, hasta al momento no existe un consenso en el uso de glutamina bajo estas circunstancias debido a la falta de consistencia de los resultados en esos estudios (Plauth et al., 1999; Hall et al., 2003).

1.10 El Glutamato de la Leche Materna, la Microbiota y la Respuesta Inmune Intestinal

Cuando un niño nace, los componentes inmunológicos del intestino ya se encuentran presentes (Newburg et al., 2007). Tradicionalmente, la respuesta inmune de defensa del organismo se divide en respuesta inmune innata y respuesta inmune adquirida (Mackay et al., 2001). La primera se conforma por barreras físicas y químicas como el epitelio intestinal, el ácido clorhídrico del estómago, la producción de criptidinas en el intestino, así como también factores humorales como las proteínas plasmáticas del complemento, proteínas de fase aguda, entre otras. Los elementos celulares de la respuesta inmune innata incluyen las células dendríticas, células NK (natural killer), células fagocíticas como los polimorfonucleares, los macrófagos. Este tipo de respuesta es similar para todos los agentes patógenos y no puede discriminar específicamente al agente agresor. Por otro lado, la respuesta inmune adquirida está mediada por los linfocitos B y linfocitos T y sus productos; esta respuesta inmune es específica y puede montar una respuesta inmune más rápida y más

potente si el huésped es infectado más de una vez por un mismo patógeno. A pesar de que todos los componentes del sistema inmune intestinal están presentes al nacimiento, los recién nacidos tienen mayor riesgo de infección que niños mayores y que los adultos, lo que indicaría una aparente inmadurez de la respuesta inmune intestinal al momento del nacimiento. En otras especies como en los ratones, por ejemplo, el sistema inmune también completa su desarrollo después del nacimiento. La inmadurez del sistema inmune al nacimiento pondría al recién nacido en riesgo de infecciones; sin embargo, para compensar esta parcial debilidad, anticuerpos de la madre (IgG) pasan por la placenta al feto, reforzando de esta forma el sistema inmune del recién nacido. Por otro lado, la leche materna provee de inmunidad pasiva al lactante por medio de células fagocíticas y proteínas con propiedades anti-microbianas de amplio espectro, disminuyendo así el riesgo de infección del lactante (Howie et al., 1990; Chantry et al., 2006). De ahí la importancia de la alimentación con la leche materna.

Por otra parte, uno de los componentes más importantes del sistema inmunológico es el denominado tejido linfoide asociado al intestino comúnmente llamado GALT por sus siglas en inglés (“gut-associated lymphoid tissue”). La superficie mucosa del intestino está expuesta a una gran cantidad de agentes externos como el alimento y microorganismos que conforman la microbiota intestinal y, por tanto, es un sitio potencialmente vulnerable a la entrada de agentes infecciosos. No es sorprendente entonces saber que la mayoría de agentes patógenos ingresan al organismo por las superficies mucosas como la intestinal. El tejido linfoide del intestino debe entonces cumplir con una especial función de defensa contra organismos patógenos, pero, al mismo tiempo, debe permitir/tolerar la presencia de agentes externos como los alimentos y la microbiota intestinal que coexiste en simbiosis con el huésped. El GALT está conformado por agregados linfoides que están bajo el

epitelio del intestino desde la boca hasta el ano, ejemplos de estos agregados incluyen las amígdalas, las adenoides, el apéndice, nódulos linfoides situados a lo largo del intestino delgado y grueso, y las denominadas placas de Peyer.

Las placas de Peyer son agregados de células inmunes por donde se induce (inicia) la respuesta inmune. Están cubiertas con un epitelio especializado que les permite tomar constantemente muestras del contenido intestinal y, por interacción con las células del sistema inmune, establecen o no una respuesta inmunológica. Si el contenido intestinal no es una amenaza para el organismo, este es “tolerado” y no se establece una respuesta inmune. Por el contrario, si existiera un agente infeccioso en el intestino, se despierta entonces una fuerte respuesta inmune intestinal que se expresa no solamente a nivel de las placas de Peyer sino también a lo largo del intestino a través de los linfocitos y otras células inmunes efectoras de la lámina propia. El GALT está entonces encargado de procesar los antígenos que interactúan con la mucosa intestinal y diseminar la respuesta inmune.

Entonces, los alimentos que el lactante consume temprano en la vida son fuente de antígenos a los cuales debe “tolerar” y que normalmente están en la leche materna (Calder et al., 2006). Sin embargo, la alimentación temprana también debe proveer factores (incluidos nutrientes) que ayuden a modular la respuesta inmunológica y favorecer el establecimiento de la microbiota intestinal. La microbiota intestinal, a su vez, ayuda a la maduración del sistema inmune (Calder et al., 2006). Por otro lado, la respuesta inmune del recién nacido se complementa con la inmunidad pasiva que el lactante adquiere por el paso de IgG de la madre durante el periodo fetal y por los componentes inmunes presentes en la leche materna en la lactancia (Gil et al., 2002). Además, la leche materna también contiene elementos que modulan la respuesta frente a “antígenos” que no constituyen un peligro para el huésped y, de esa manera, evitar una reacción inmune que potencialmente podría dañar al

intestino. Tanto el establecimiento de la microbiota intestinal como los factores inmunes moduladores de la leche materna, tienen un papel crítico en la maduración del intestino y de su sistema inmune. El efecto modulador de la respuesta inmune por la leche materna a temprana edad podría explicar el efecto benéfico que esta tiene en enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1, alergias, enfermedades crónicas no transmisibles, que aparecen más tarde en la vida. Estos datos indican que la leche materna, rica en aminoácidos libres como glutamato y glutamina, tiene un papel protector frente al desarrollo de enfermedades crónicas como las alergias (Calder et al., 2006).

Otros componentes que están presentes en la leche materna, y que influyen en el GALT, son los aminoácidos y las proteínas (Gil et al., 2002). Así, los aminoácidos libres (treonina, cisteína, glutamato, glutamina) son indispensables para la síntesis de glucoproteínas (del moco intestinal), proteínas producidas por las células inmunes, síntesis de glutatión (ver sección 1.10).

El glutatión es un tripéptido constituido por glutamato, glicina, y cisteína que actúa como transportador de aminoácidos y como antioxidante. En situaciones de estrés, por ejemplo durante periodos de nutrición parenteral y presencia de infecciones, las concentraciones de glutatión pueden disminuir y los requerimientos de glutamato y glutamina se incrementan. La administración de estos aminoácidos, en situaciones de estrés, mejoran el estado del GALT (Gil et al., 2002). Se ha demostrado que la administración de glutamina previene la atrofia de la mucosa intestinal que se observa en la nutrición parenteral; igualmente, en un modelo animal de endotoxemia, se demostró que la administración oral de glutamina mejoró los niveles de las células inmunes intestinales (Li et al., 1998; Manhart et al., 1999). Estos estudios indican que la leche materna, además de proveer inmunidad pasiva, contiene nutrientes que modulan la respuesta inmune intestinal.

El estímulo más importante para el desarrollo del sistema inmune intestinal es la colonización microbiana del intestino (De la Cochetière et al., 2007). Al nacimiento, el intestino del recién nacido es estéril. Durante el proceso del parto y posterior a este, los microorganismos de la madre y del medioambiente circundante colonizan el intestino hasta constituir el ecosistema microbiano llamado microbiota intestinal. Este ecosistema está formado por aproximadamente 400 especies bacterianas y, una vez establecido, es muy estable en su composición. La microbiota intestinal cumple con funciones fisiológicas, nutricionales y de defensa del organismo (Tabla 4). Ayuda en la digestión de macronutrientes, producción de ácidos grasos de cadena corta y en la síntesis de vitaminas; además, es una barrera de defensa contra microorganismos patógenos, limitando su crecimiento y mejorando la inmunidad intestinal al estimular el GALT.

Tabla 4. Importancia de la Microbiota Intestinal

<p>Favorece el desarrollo del sistema inmune intestinal. Favorece el desarrollo del sistema nervioso intestinal. Compite con microorganismos patógenos. Metaboliza macronutrientes que llegan al intestino grueso. Produce ácidos grasos de cadena corta. Degrada la mucina intestinal. Convierte el urobilinógeno en urobilina. Convierte el colesterol en coprostanol. Degrada la úrea. Permite la circulación enterohepática de ácidos biliares, bilirrubina, entre otros. Puede generar metabolitos carcinogénicos. Puede causar daño directo de la mucosa en condiciones anormales.</p>

Fuente: De la Cochetière et al., 2007

Existen varios factores que modulan el establecimiento de la microbiota intestinal como el tipo de parto, la dieta, la carga genética del huésped, el uso de fármacos (antibióticos), entre otros (McCracken et al., 2001). El parto vaginal implica que la colonización inicial de boca y estómago del recién nacido se haga por parte de las especies microbianas presentes en las heces fecales y en la microbiota vaginal de la madre (Mackie et al., 1999). Los niños que nacen por cesárea se exponen a la microbiota de la madre pero además se exponen a las bacterias presentes en los equipos quirúrgicos y en el personal de salud presente en el momento del procedimiento quirúrgico. Esto determina que la composición de la microbiota intestinal sea distinta en niños nacidos por parto normal o por cesárea. En términos generales, el recién nacido por vía vaginal es colonizado en los primeros días de vida por *Enterobacteriaceae* y por cocos Gram positivos, los mismos que crean un medioambiente adecuado para el establecimiento de *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, y *Clostridium* (McCracken et al., 2001). Por otro lado, el consumo de leche materna facilita la colonización intestinal principalmente por *Bifidobacterium* y también por *Lactobacillus* y *Streptococcus*, mientras que la microbiota de los niños alimentados con fórmulas maternizadas contiene predominantemente coliformes y enterococos, *E. Coli* y *Klebsiella* (Harmsen et al., 2000). La leche materna contiene complejos de oligosacáridos (fructanos, inulina) que no son susceptibles de degradación por las amilasas del lactante, sino que más bien actúan como prebióticos, facilitando la proliferación de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, que son abundantes en la microbiota normal del infante (de La Cochetière, 2007). La microbiota intestinal estimula el desarrollo normal de la respuesta inmune intestinal (Cebra, 1999). Además, estimula la producción de moco, la síntesis y secreción de IgA por parte de los linfocitos B, y estimula también a los linfocitos T de la lámina propia intestinal. Tanto el moco como la IgA secretados en el lumen del intestino cubren y

protegen la superficie intestinal contra patógenos intestinales (Field, 2005). Por otro lado, la microbiota y los componentes celulares y proteicos de la leche materna modulan la respuesta inmune intestinal por lo que limitan la inflamación y logran un equilibrio en la respuesta mediada por las células T ayudadoras (Lönnerdal, 2003; Coëffier et al., 2001). Alteraciones en esta respuesta mediada están asociadas con enfermedades como alergias, enfermedad inflamatoria intestinal, entre otras.

Ya se ha indicado que componentes del nitrógeno no proteico de la leche materna como el glutamato y la glutamina contribuyen en la defensa del intestino al favorecer el mantenimiento de la barrera intestinal, imposibilitando el ingreso de posibles agentes patógenos. Fallas en la barrera intestinal en el periodo neonatal también se han asociado con atopía y alergias, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celiaca, enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1 (Newburg et al., 2007). La administración de glutamina a pacientes con alteraciones de la barrera intestinal como las complicaciones de sepsis, enfermedad inflamatoria intestinal, mejora la respuesta al estrés metabólico y el balance nitrogenado (Fontana et al., 2006).

A pesar del evidente efecto benéfico de la leche materna en la nutrición y desarrollo del lactante, los mecanismos moleculares de estos efectos no han sido completamente establecidos. Claramente se necesitan más estudios para identificar los efectos del glutamato en el intestino del lactante y en el sistema inmune.

PARTE II

CONCENTRACIONES DE AMINOÁCIDOS LIBRES EN LA LECHE MATERNA DE MADRES ADOLESCENTES Y ADULTAS

INTRODUCCION

La leche materna es el alimento exclusivo recomendado para los lactantes durante los seis primeros meses de vida (OMS, 2003; AAP, 2005). La leche materna contiene cantidades adecuadas de carbohidratos, grasa, proteínas, vitaminas, minerales, agua y energía que satisfacen las demandas que se requieren durante esta etapa de crecimiento del infante. Además de contener todos los nutrientes, la leche materna ofrece una inmunidad pasiva al infante ya que contiene células inmunes, factores inmunes, antioxidantes, anticuerpos citosinas y factores bioactivos (Hanson, 2007; Castellote, 2011). Además, la leche materna contiene componentes nitrogenados que incluyen aminoácidos libres y factores de crecimiento, que pueden estar implicados en el desarrollo del intestino y en la respuesta inmune del infante (Xu R-J, 1996; Moran VH, 2007). Por consiguiente, la lactancia promueve el desarrollo normal y crecimiento adecuado de los infantes, disminuyendo la morbilidad y mortalidad en los niños lactantes.

El embarazo durante la adolescencia constituye un grave problema de salud pública en muchos países alrededor del mundo, ya que constituye un riesgo significativo tanto médico como nutricional para las madres y sus hijos (Morán VH, 2007). Muchos factores son los que afectan el desarrollo de un embarazo y en especial si se trata de una adolescente. Estos factores incluyen el consumo de alimentos y el estado nutricional de la madre, así como la competencia que existe durante el embarazo por los nutrientes entre el feto y la madre (Morán VH, 2007; Lenders CM et al., 2000; Brown J, 2008). Cada año en el mundo, cerca

de 16 millones de adolescentes entre 15 y 19 años tienen un hijo, representando el 11% de todos los nacimientos. (OMS- Boletín, 2009, UNICEF, 2008). Esto es de especial interés para América Latina y el Caribe, donde se registran las tasas más elevadas de nacimientos de madres adolescentes entre 10 y 19 años de edad. En el Ecuador, al igual que en otros países en desarrollo, aproximadamente el 20% de todos los nacimientos ocurre en madres adolescentes. (UNFPA-Ecuador, 2008).

El embarazo y la lactancia es diferente entre madres adolescentes y adultas, biológicamente las adolescentes son incapaces de producir una leche materna tan completa como la de una madre adulta debido a su aun inmadurez en el desarrollo (Motil KJ, Kertz B, 1997). La producción de leche materna en madres adolescentes es significativamente menor (37-54%) que en la de madres adultas durante las 6 y 24 semanas postparto (Motil KJ, Kertz B, 1997). Los datos indican, que los bebés alimentados con leche materna de madres adolescentes, tienen una ingesta energética inadecuada, que no les permite obtener los requerimientos necesarios para su crecimiento normal (Motil KJ, Kertz B, 1997). Además, las madres jóvenes interrumpen lactancia más temprano que las madres adultas (Motil KJ, Kertz B, 1997). Estas limitaciones podrían afectar negativamente el desarrollo del infante lactante. Los componentes no proteicos nitrogenados de la leche materna incluyen aminoácidos libres, péptidos, urea, ácido úrico, amonio, creatina, creatinina, aminoazúcares y ácidos nucleicos. Estudios demuestran que varios de estos compuestos cumplen un papel funcional en el crecimiento y desarrollo del lactante (Koletzko et al., 1998). Los aminoácidos libres constituyen entre el 3 y el 5% de los aminoácidos totales de la leche materna, siendo el glutamato el AA más abundante (Agostoni et al., 2000a). La concentración de glutamato libre en la leche materna de primates es alta comparada con la

leche de otros mamíferos, por ejemplo, en la leche humana la concentración es 1339-2157 $\mu\text{mol/L}$, mientras que en la leche de vacas o ratones es de aproximadamente 349 $\mu\text{mol/L}$ (Sarwar G et al., 1998). Estos datos apoyan la idea de que la leche materna es la única fuente de alimentación infantil y que este fenómeno evolutivo asociado con la alta concentración de glutamato libre, es indispensable para el desarrollo de los primates y de los humanos lactantes (Burrin et al., 2002). El glutamato y la glutamina son los aminoácidos más abundantes del cuerpo humano e intervienen en muchas funciones fisiológicas. El glutamato y la glutamina son los componentes principales de las proteínas. El glutamato es un neurotransmisor que provoca el sabor umami y envía señales al estómago a través del nervio vago, para el control del metabolismo de nutrientes. (San Gabriel A et al., 2007; Uneyama, et al., 2006). El glutamato también estimula la diferenciación de la mucosa intestinal. Actúa como sustrato en la síntesis de glutatión. Es un metabolito intermediario en el Ciclo del Ácido Cítrico y es un precursor en la síntesis de ácidos nucleicos (síntesis de ADN). El glutamato es la fuente de energía más importante de las células epiteliales intestinales y modula la respuesta inmune gastrointestinal (Tanaka K, 2007, Reeds et al., 2000). Por lo tanto, concentraciones suficientes de glutamato y glutamina cumplen un papel importante en el desarrollo fisiológico del infante (Jochum F, et al., 2006). En la Región Andina y en países en vías de desarrollo, no se han presentado estudios donde se comparan las concentraciones de aminoácidos libres (AAL) presentes en la leche materna de madres adolescentes y adultas. De acuerdo con esto, el objetivo general del presente estudio es determinar el contenido de aminoácidos libres en la leche materna durante cuatro períodos de lactancia (calostro, transición y madura) de madres primíparas adolescentes y adultas del Hospital Gineco-Obstétrico Isidro Ayora de Quito capital del

Ecuador. La hipótesis del estudio sostiene que la menor edad de la madre afecta negativamente la concentración de glutamato libre en la leche materna.

METODOLOGÍA

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad San Francisco de Quito en Quito – Ecuador. Cada participante firmó un Consentimiento Informado después de haberle dado la debida explicación del estudio, sus posibles consecuencias y beneficios.

2.1 Población de Estudio:

Las Madres participantes fueron reclutadas voluntariamente en el Hospital Gineco Obstétrico (HGO) Isidro Ayora de la ciudad de Quito. Se les informó acerca del estudio durante la visita en el hospital mientras estaban en su etapa de postparto.

Las madres interesadas, en ese momento nos proporcionaron sus datos personales, para poder realizar las visitas siguientes. Si en este lapso de postparto en el hospital, la madre se encontró en condiciones de donar la leche, se le extrajo la primera muestra en el hospital respetando las reglas de la institución. Se reclutó a 39 madres adolescentes y 26 madres adultas, para obtener cuatro muestras de leche durante los períodos de lactancia (calostro 1 – 5 días, transición 15 días, madura 2 meses, madura 4 meses). Las madres podían abandonar el estudio en el momento en que lo deseen.

2.1.1 Criterios de Inclusión:

Edad¹ de las madres adolescentes entre 11 y 18 años

Edad de las madres adultas entre 19 y 36 años

Período Gestacional a término (>36 semanas) para ambos grupos

¹ Según la OMS la edad de las madres adolescentes se considera entre 10 -19 años (WHO, underweight and overweight, 2003) .Sin embargo, se manejó el criterio del HGO al momento de categorizar a las madres.

Madres primíparas para ambos grupos

Madres y bebés saludables

Lactancia exclusiva durante el período de estudio o parcialmente suplementada con fórmulas infantiles en la etapa final del estudio.

Firma del Consentimiento Informado.

2.1.2 Criterios de Exclusión:

Bebés alimentados completamente con fórmulas infantiles

Bebés con intolerancia a la leche materna

Madres con alguna condición médica específica (enfermedades infecciosas que se puedan transmitir a través de la leche materna como VIH)

Madres que se hayan practicado algún aborto

Madres que estén tomando alguna medicación específica

2.2 Recolección de datos:

Al inicio de la inclusión, las madres proporcionaron sus datos personales en lo que pasó a ser la Tarjeta de Identificación de las madres participantes (anexo 1). Para el seguimiento en cada visita, se llenó una Ficha Clínica para cada participante, en la que constan los datos antropométricos de la madre y del niño y cualquier otra observación cuando fue necesario, por ejemplo si el bebé sufrió alguna enfermedad importante o si la madre introdujo otro alimento que no fuese la leche materna (anexo 2). Para realizar el análisis del estado nutricional de las madres se tomó una muestra de sangre en ayunas el mismo momento de las visitas, en tubos debidamente rotulados. Para determinar la ingesta nutricional de la dieta de las madres se utilizó un formulario de recordatorio de 24 horas (anexo 3)

2.3 Procedimiento:

2.3.1 Recolección de la Leche Materna:

Se recolectó leche materna durante cuatro periodos de lactancia, calostro (1 a 5 d), transición (15 d), madura (2 meses) y madura (4 meses). Las muestras de leche materna provinieron de madres que estaban exclusivamente dando de lactar. La leche se recolectó utilizando una bomba de extracción de leche manual, marca Camera modelo 11133. Cuando fue posible, la primera muestra de leche se la obtuvo durante la hospitalización en la fase de postparto de la madre, y después en el hogar de las madres participantes. Se recolectó 20 mL de leche materna, 10 mL de cada seno, en tubos cónicos estériles marca Falcon de 50 mL. Inmediatamente se colocaron en hielo, para ser transportados al laboratorio para su procesamiento. No debía pasar más de dos horas entre la extracción de la leche y el transporte de las muestras. Las visitas a las madres se realizaron en las mañanas, entre las 6:30 y 8:00 am, pues debían estar en ayunas y se le pedía que el día anterior a la visita, realizaran la última comida a las 7 pm. En lo posible se pidió a las madres que la última toma de leche por parte del bebé fuera una hora antes de la visita.

2.3.2 Recolección de las muestras de sangre:

Se extrajo una muestra de sangre venosa del pliegue del codo de las madres, con una aguja estéril (21Gx1”), en ayunas, al inicio del estudio (7 primeros días) y al final del estudio (4 meses), en tubos vacuntainers con gel de 8.5 mL, debidamente rotulados, las muestras se colocaron en hielo, para ser transportados al laboratorio para su procesamiento en un tiempo máximo de 2 horas después de realizada la extracción.

2.3.3 Recolección de las Medidas Antropométricas

Se tomó el peso y la talla a las madres en cada una de las visitas, empleando una balanza estandarizada marca Seca clara 803 y una cinta métrica marca Seca de 201 cm respectivamente. Con la misma cinta se midió el perímetro cefálico a los bebés en cada visita. Para medir la talla a los bebés se utilizó un infantómetro alemán marca Seca modelo 210 (no fue posible medir a todos los bebés por no tener superficies adecuadas para la medición). Las madres se encontraban con ropa ligera y sin zapatos el momento de tomar los datos. El peso de los bebés se calculó por diferencia de peso entre el peso de la madre sola y el peso de la madre con el bebé.

2.3.4 Registro del Consumo de Alimentos

Se utilizó el método retrospectivo Recordatorio de 24 horas para evaluar el consumo de alimentos, las madres debían llenar los formularios dos días entre semana y un fin de semana (anexo 3). Los datos en relación a macronutrientes (carbohidratos, grasas y proteínas) y micronutrientes (vitaminas y minerales), se analizaron con el programa ESHA Food Processor Program (ver sección 2.3.8).

2.3.5 Preparación y Análisis de las muestras de Leche Materna

Para el análisis de aminoácidos libres en las muestras de leche materna, se ocupó el Protocolo utilizado por la empresa Ajinomoto Co. Inc., Institute of Life Science de Japón (anexo 4). Básicamente consistió en precipitar las proteínas de la leche con ácido sulfosalicílico dihidratado al 6% (disuelto en agua) y centrifugar a 3000 rpm durante 15 minutos para separar el suero de la grasa (centrífuga alemana marca Eppendorf modelo

5804 R). El suero se filtró (Whatman 25mm GD/X Syringe Filters) y el filtrado se almacenó en tubos criogénicos de 5 ml a -70 C en nitrógeno líquido, hasta el momento de ser enviados al Japón para ser analizados (Noguchi Y. *et.al.*, 2006). En los laboratorio de Japón, las moléculas de leche > a 10 UMA (10 kDa) fueron limpiadas con anAmicon® Ultra centrifugal filter (Millipore, Tokyo, Japan), para luego ser analizadas en un equipo automático HPLC modelo L-8900 (Hitachi, Tokio, Japan). Este equipo utiliza un sistema cromatográfico de intercambio catiónico para separar los diferentes aminoácidos. Todas las muestras fueron medias por duplicado, y la reproductibilidad fue verificada con soluciones estándar. La detección de cada aminoácido se basó en el análisis espectrofotométrico con el reactivo de ninhidrina (Noguchi Y. *et.al.*, 2006).

2.3.6 Preparación y Análisis de las muestras de Sangre

Las muestras de sangre se centrifugan a 3000 rpm durante 10 minutos (centrífuga americana marca Medilite 12 PLS Thermo IEC) y el suero se almacena en tubos eppendorf de 1.5mL a -20 C, para el análisis de glucosa, albúmina, proteínas, perfil lipídico (colesterol, HDL, LDL, TG), calcio y hierro. El análisis se lo realizó en el colegio de ciencias de la Salud de la Universidad San Francisco de Quito, utilizando un espectrofotómetro (Hitachi Roche – Diagnostics modelo 917) cuyo sistema es un analizador automático con estándares internos pre- establecidos (Fornasini M. *et. al.*).

2.3.7 Análisis de los Datos Antropométricos

Con los datos antropométricos se calculó el Índice de masa corporal (IMC) que es un indicador que se utiliza para conocer el estado nutricional actual o anterior de una persona (Sánchez et. al., 2003) e identificar algún riesgo relacionado con su estado nutricional.

Representa la relación entre el peso (kg) dividido para la estatura (m²) . Se lo calculó con la siguiente fórmula matemática y se relacionó con la tabla 5.

$$IMC = \frac{\text{Peso (Kg)}}{\text{Estatura (m}^2\text{)}}$$

Tabla 5: Estado Nutricional para adultos mayores a 20 años

IMC	Estado Nutricional
< 18,5	bajo peso
18,5-24,9	Peso normal
25,0-29,9	Pre-obesidad
30,0-34,9	Obesidad tipo I
35,0-39,9	Obesidad tipo II
>40	Obesidad tipo III

Fuente: OMS, 1995

Con el valor del IMC de las madres adolescentes se realizó la relación con las tablas puntuación - Z establecidas en el año 2007 por expertos de la OMS (tabla 6, anexo 5).

Tabla 6: Puntos de Corte para el IMC en mujeres adolescentes

Estado Nutricional	Puntuación Z
Sobrepeso	>+1 DS (equivalente a IMC 25Kg/m ² a los 19 años)
Obesidad	>+ 2DS (equivalente a IMC 30 Kg/m ² a los 19 años)
Delgadez	<-2 DS
Severa Delgadez	<-3 DS

Fuente: OMS, 2007

DS: Desviación Estándar

2.3.8 Análisis del Consumo de Alimentos

Los datos registrados sobre el consumo de alimentos de las madres participantes, se analizaron con el programa ESHA Food Processor Program (ESHA, Food Processor for

Windows. 7.50. Database Version: June 2000. ESHA Research, Salem, Oregon), licencia que pertenece a la Universidad San Francisco de Quito. Los alimentos propios del Ecuador se añadieron a la base de datos utilizando la etiqueta nutricional para cada producto (Ma Y., *et.al.*, 2009).

2.4 Cálculo de la muestra representativa y análisis estadístico de los datos

Es un estudio descriptivo, prospectivo, que contó con la participación de 65 madres: 39 madres adolescentes y 26 madres adultas. En vista de que la concentración de aminoácidos libres en la leche materna no presenta una distribución normal y considerando que los datos para las mismas madres durante el tiempo no son independientes, se emplearon pruebas no paramétricas y pareadas. Para la comparación de las concentraciones de aminoácidos libres en la leche de madres adolescentes y adultas en los diferentes periodos de lactancia (calostro, transición y madura), y poder establecer diferencias entre grupos, se aplicó la prueba de Mann-Whitney U para muestras independientes. Cuando se encontró diferencias significativas en las concentraciones de aminoácidos dentro de los grupos de estudio, se empleó la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas. Se utilizó el programa SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) para los análisis estadísticos. Para analizar diferencias entre grupos en variables categóricas se utilizó la prueba X^2 “Chi cuadrado” (programa Epi-table, epiinfo version 6.0). Se consideró diferencia significativa cuando $P < 0.05$ de doble cola.

Todos los datos del presente estudio muestran en sus tablas y figuras la mediana y el rango intercuartil ($m \pm ri$).

RESULTADOS

2.5 Características Demográficas

El presente estudio contó con la participación de 39 madres adolescentes y 26 madres adultas. La mediana para la edad de las madres adolescentes fue de 16 años, y para las madres adultas de 20 años. La mayoría de las madres son mestizas para ambos grupos (92% adolescentes y 100% adultas). Ninguna madre adolescente estaba casada, el 51% vivían con sus parejas y el 38% solteras y vivían con sus progenitores. En cuanto a las madres adultas, el 38% eran casadas, el 11% vivían con sus parejas y un 46% eran solteras y vivían con sus padres. Todas las madres que fueron reclutadas pertenecen a un estrato socioeconómico bajo. El 59% de madres adolescentes terminó la educación general básica esto en el Ecuador, significa que completó 10 niveles de estudio desde el primero de básica hasta completar el décimo año; el 31% de madres adultas terminó el bachillerato general unificado que comprende tres años más, luego de la educación general básica y el 54% habían comenzado una carrera universitaria. (Tabla 7).

Tabla 7: Características Demográficas

CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS	Adolescentes (N=39)	Adultas (N=26)	Valor p
Edad (años)	16±1	20±4	0,000
ESTADO CIVIL			
Casadas	0	10 (38.5%)	
Unión Libre	20 (51.3%)	3 (11.5%)	0,001*
Solteras	15 (38.4%)	12 (46.2%)	0,54
Datos no reportados	4 (10,3)	1 (3,8)	0,63
RAZA/ETNIA			
Blanca	0	0	
Negra	1 (2,6%)	0	
Mestiza	36 (92,3%)	26 (100%)	0,39
Indígena	2 (5,1%)	0	
EDUCACION			

Educación General			
Básica (7 años de estudio)	10 (25,6%)	1 (3,8)	0,05*
Educación General Básica (3 años más de estudio)	23 (59%)	0	
Graduadas del Bachillerato General	2 (5,1%)	8 (30,8%)	0,01*
Educación Superior	0	12 (46,2%)	
Tecnologías	0	1 (3,8%)	
Graduadas de la Universidad	0	1 (3,8%)	
Datos no reportados	4 (10,3%)	3(11,5%)	0,81
ESTRATO SOCIAL			
Todas las participantes son de estrato medio-bajo			
*P<0,05 (Chi ² , Epi-table, Epiinfo 6)			

2.6 Estado Nutricional

2.6.1 Química Sanguínea

Los resultados del análisis de glucosa, albúmina, proteínas, perfil lipídico (colesterol total, HDL, LDL, TG), calcio y hierro se encuentran en la tabla 8. Los valores de glucosa sanguínea se mantienen dentro de los valores de referencia para ambos grupos de estudio tanto al inicio como al final del estudio. No existen diferencias significativas en las concentraciones de glucosa sérica para ambos grupos (Tabla 8, Figura 2.1). Los valores del colesterol total, TG, LDL están sobre el valor de referencia para ambos grupos en la primera semana después del parto y se normalizan al cuarto mes del estudio (Tabla 8, Figuras 2.2-2.3-2.4). No existen diferencias significativas entre ambos grupos. Con la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, se determinó diferencias significativas dentro de cada grupo para colesterol, TG y LDL (Figuras 2.2-2.3-2.4). Sin embargo, se observa un comportamiento distinto en HDL-C al inicio y al final del estudio. Durante los 5 primeros días después del parto la concentración de HDL en el grupo de madres adolescentes es más bajo que el de las madres adultas (38 ± 21 vs 48 ± 18.5) y se mantiene así hasta los 4 meses de

lactancia (38 ± 24 vs 50 ± 13) y estas diferencias son significativas ($p<0.04$ al inicio y $p<0.02$ al final). En cambio, las madres adultas presentaron valores de HDL dentro del rango de normalidad (Tabla 8). Los valores de albúmina, hierro y calcio séricos están acorde a los valores referenciales para ambos grupos y no existen diferencias significativas entre los grupos. (Tabla 8; Figuras 2.6-2.7-2.8). Sin embargo dentro de cada grupo (Prueba de Wilcoxon), se determinó diferencias significativas para hierro (Figura 2.7). En cuanto a proteína sérica existe una diferencia significativa ($p<0.03$) al inicio del estudio entre el grupo de adolescentes y adultas (7.1 ± 0.5 vs 6.8 ± 1.1), valores que están dentro de los rangos de referencia, tanto al inicio como al final del estudio (Tabla 8, Figura 2.9).

Tabla 8: Resultados Química Sanguínea

Parámetro	Adolescentes m±ri	Adultas m±ri	Valor p	Valor de Referencia
Glucosa (mg/dL) A	74,7±16,7	77,9±19,95	0,34	70-100
Glucosa (mg/dL) B	80,0±16,4	81,5±21,45	0,53	
Colesterol (mg/dL) A	246,0±65,45	252,0±64,65	0,34	140-200
Colesterol (mg/dL) B	160,0±61,0	176,4±37,4	0,16	
TG (mg/dL) A	142,2±69,0	160,0±51,1	0,38	35-150
TG (mg/dL) B	86,7±69,6	81,4±22,3	0,68	
HDL (mg/dL) A	38±21	48±18,5	0,04*	>40
HDL (mg/dL) B	38±24	50±13	0,02*	
LDL (mg/dL) A	156,6±67,2	165,9±42,2	0,63	70-100
LDL (mg/dL) B	100,2±50,1	113,2±30,0	0,44	
Proteínas (g/dL) A	7,1±0,5	6,8±1,1	0,03*	5.5-8.7
Proteínas (g/dL) B	6,8±0,9	6,9±0,3	0,34	
Albúmina (g/dL) A	4,6±0,3	4,6±0,5	0,29	3.2-5.2
Albúmina (g/dL) B	4,4±0,5	4,5±0,4	0,5	
Hierro (ug/dL) A	53,4±29,9	38,7±40,8	0,18	29-163
Hierro (ug/dL) B	75,5±53,6	68,3±45,7	0,79	
Calcio (mg/dL) A	8,9±0,9	8,9±0,9	0,79	8.3-10.5
Calcio (mg/dL) B	9,1±1,3	9,2±0,9	0,14	

* $P<0,05$ entre grupos
 m: mediana; ri: rango intercuartil
 A: 5 días después del parto
 B: a los 4 meses de lactancia

2.6.2 Antropometría

A las madres participantes se les tomó el peso y la talla y con esos datos se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC). En la tabla 9 se muestran los datos antropométricos de las madres participantes y sus hijos. Al inicio del estudio (5 primeros días después del parto), las madres presentaron un IMC que refleja un estado de pre-obesidad (tabla 5) para las madres adultas y de sobrepeso para las madres adolescentes (tabla 6, anexo 5, Figura 1.1). El peso de las madres tiende a normalizarse a medida que avanza el estudio y se observa que para el final del estudio (4 meses) tienen un IMC que está dentro del rango de la normalidad para ambos grupos (figura 1.1). En cuanto al peso de los bebés se nota que al final del estudio los niños de madres adultas alcanzan un mejor peso que el de las adolescentes, diferencias que no significativas (Figura 1.2). Sin embargo, los bebés para ambos grupos de estudio han alcanzado el peso adecuado según las tablas de crecimiento de la OMS (OMS, peso para la edad). Así también, el perímetro cefálico de los bebés se encuentra dentro de los rangos que indican normalidad (OMS, perímetro cefálico para la edad) (Figura 1.3).

Tabla 9: Características Antropométricas de las Madres y sus Bebés

	Estatura Madre (m) m±ri	Peso Madre (Kg)		IMC (Kg/m ²)		Peso Bebes (g)		PC Bebes (cm)	
		A	B	A	B	A	B	A	B
Adolescentes (N=39)	1,55±0,09	62,5±16,6	56,2±17,3	27±6,5	24±6,75	3293±399	6786±1697	33,5±2,0	40,5±3,0
Adultas (N=26)	1,55±0,08	62,9±10,7	59,8±11,7	25±5,5	24±1,5	3261±873	7086±1148	33,0±2,0	41,0±2,0
Valor p	0,76	0,70	0,50	0,69	0,39	0,52	0,29	0,79	0,67

*p<0.05 entre grupos

m: mediana; ri: rango intercuartil

A: dentro de los 5 d después del parto

B: a los 4 meses de lactancia

2.6.3 Consumo de Nutrientes

La tabla 10 muestra los resultados obtenidos de la ingesta de las madres lactantes durante los primeros 5 días después del parto y a los 4 meses de lactancia. En cuanto a calorías totales, tanto las madres adolescentes como las adultas tienen un consumo calórico inferior a los valores de referencia durante todo el estudio. Sin embargo, existió una diferencia significativa ($p < 0.05$) en el consumo calórico de las madres adultas con respecto a las madres adolescentes después del parto (2195.5 Kcal vs 1645.5Kcal) (Figura 3.1). Hacia los cuatro meses de lactancia, las madres incrementaron su ingesta calórica pero no alcanzan a los valores de referencia. En cuanto al consumo de macronutrientes se observó un mayor consumo de estos nutrientes en las madres adultas. Con respecto a los carbohidratos, no existieron diferencias significativas en el consumo para ambos grupos durante todo el estudio. Las madres experimentaron un incremento en el consumo de carbohidratos desde el inicio hasta los cuatro meses de lactancia (Figuras 3.2). En relación al consumo total de grasa, no existieron diferencias significativas entre los grupos de estudio dentro de los 5 primeros días después del parto. Sin embargo, hubo un incremento en el consumo de grasas en ambos grupos a los cuatro meses de lactancia, siendo estadísticamente significativa la diferencia en la ingesta de grasa al final del estudio para las madres adultas ($p < 0.05$) (Figura 3.3) Se observó que las madres adolescentes tuvieron un déficit en la ingesta proteica después del parto, pero que alcanza los valores normales a los cuatro meses de estudio. Por el contrario el consumo de proteína por parte de las madres adultas fue adecuado durante todo el estudio y fue mayor que el de las adolescentes, diferencias que no fueron significativas (Tabla 10, Figura 3.4).

En el consumo de micronutrientes podemos observar que los valores de Vitamina A se encuentran por debajo del valor de referencia para madres lactantes (VR: 1300 mcg/d) en

ambos grupos de estudio tanto al inicio como al final del estudio (731mcg -516.5 mcg vs 199 mcg-117mcg) sin ser estas diferencias entre grupos significativas. Sin embargo, dentro del grupo de madres adolescentes existe una diferencia y es significativa ($p < 0.006$, prueba de Wilcoxon) (Tabla 10; Figura 3.5). Los niveles de vitamina D son bajos para ambos grupos de estudio, sin embargo son madres que siempre tuvieron una exposición adecuada al sol que es la fuente principal de esta vitamina por lo que los riesgo que surgirían por déficit de esta vitamina son mínimos. (Figura 3.6). En cuanto a folato, durante los 7 días postparto las madres adolescentes alcanzan un 84% del requerimiento, mientras que las madres adultas superan el porcentaje de referencia (Tabla 10), ésta diferencia entre grupos es significativa ($p < 0.03$). A los 4 meses de estudio se mantiene la tendencia y es mayor el porcentaje de consumo de folato en las madres adultas (Figura 3.7). El consumo de calcio en las madres participantes no alcanza el 50% del valor de referencia (VR: 1000 mg/d adolescentes y 1300 mg/d adultas) y se mantiene decreciente hasta el final del estudio (Figura 3.8). El consumo de Hierro es aceptable para ambos grupos al inicio del estudio y supera el requerimiento a los cuatro meses de lactancia (Figura 3.19). En cuanto al sodio ambos grupos consumen sobre el porcentaje del valor requerido diario. (Tabla 10; Figura 3.11).

Tabla 10: Consumo de Nutrientes

Parámetro	Adolescentes	Adultas	Valor p	Valores Referenciales	
Macronutrientes	Kcal (%)	Kcal (%)		Adolescentes Lactantes	Adultas Lactantes
Calorías Totales(A)	1654,5 (82,7)	2195,5(109,7)	0,05*	2698	2733
Calorías Totales(B)	1941,5(97,1)	2196,5(109,8)	0,24		
Carbohidratos(A)	1080 (54)	1316(65,8)	0,1		
Carbohidratos(B)	1154 (57,7)	1414 (70,7)	0,22		
Grasa (A)	346,5 (17,3)	486 (24,3)	0,31		
Grasa (B)	441 (22,1)	576(28,8)	0,05*		
Proteínas (A)	68,5 g (13,7)	86 g (17,2)	0,11	71g	71g
Proteínas (B)	86,5 g (17,3)	89,5 g (17,9)	0,69		
Micronutrientes	mcg (%)	mcg (%)			
Vit A (mcg-%) (A)	731 (56,2)	516,5(39,7)	0,79	1300 mcg/d	1300
VitA(mcg-%) (B)	199(15,3)	117 (9)	0,86		
VitD(-%) (A)	2 (40)	1 (20)	0,23	5 mcg/d	
VitD(-%) (B)	1,5 (30)	2(40)	0,7		
Folato(-%) (A)	420 (84)	526,5 (105,3)	0,03*	500 mcg/d	
Folato(-%) (B)	397 (79,4)	593,5 (118,7)	0,76		
Calcio(mg-%) (A)	365,5 (36,6)	389 (29,9)	0,58	1000 mg/d	1300
Calcio(mg-%) (B)	432,5 (43,3)	490,5 (37,7)	0,92		
Hierro(mg-%) (A)	12,5 (84,5)	16 (108,1)	0,06	14.8 mg/d	
Hierro(mg-%) (B)	14,5 (97,9)	17,5 (118,2)	0,71		
Sodio(mg-%)(A)	2334 (155,6)	3042,5 (202,8)	0,11	1500 mg/d	
Sodio(mg-%) (B)	2842 (189,5)	3323,5 (221,5)	0,76		

* P<0,05 entre grupos. % basado en una dieta de 2000 Kcal

A: inicio del estudio (5d después del parto)

B: final del estudio (4 meses)

Valores de referencia tomados del libro Dietoterapia de Krause, 2009

2.7 Aminoácidos Libres en la Leche Materna

La tabla 11 muestra los resultados obtenidos para aminoácidos libres en la leche materna de madres adolescentes y adultas. El contenido de aminoácidos libres totales se incrementa a medida que aumentan los días de lactancia en ambos grupos. En la etapa de calostro las concentraciones son parecidas tanto para las madres adolescentes como para las adultas, pero a los dos y cuatro meses de lactancia hay un incremento en el contenido de estos aminoácidos en la leche de madres adultas, siendo estadísticamente significativo a los cuatro meses de lactancia ($p < 0.05$) (Figura 4.1). La concentración de aminoácidos esenciales libres es similar en la leche de madres adolescentes y adultas a lo largo de los cuatro períodos de lactancia (Figura 4.2). La concentración de aminoácidos libres no esenciales aumenta conforme aumenta la lactancia en ambos grupos y es mayor a los cuatro meses de lactancia en el grupo de madres adultas, y ésta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Figura 4.3). La concentración de Glutamina libre en la leche, aumenta conforme aumenta el período de lactancia en ambos grupos y es mayor a los cuatro meses de lactancia en el grupo de madres adultas, siendo ésta diferencia significativa ($p < 0.003$) (Figura 4.4). En la Figura 4.5 se muestra los cambios en las concentraciones de Glutamato libre en la leche de madres adolescentes y adultas, se observó una ligera y transitoria mayor concentración de glutamato libre en la etapa de transición en la leche de madres adolescentes y esta diferencia es significativa ($p < 0.05$); al igual que en otros estudios se observó que la concentración de glutamato libre aumenta conforme aumenta la lactancia, siendo mayor en la leche de madres adultas pero estas diferencias no son significativas (Tabla 11, Figura 4.5). En cuanto a otros aminoácidos libres, como alanina, serina y aspartato, se observó un aumento en las concentraciones de estos aminoácidos libres en la leche a medida que aumenta el tiempo de lactancia y a los cuatro meses esta

diferencia es significativamente mayor en la leche de madres adultas (Ala: $p < 0.05$ y Ser: $p < 0.03$) (Figuras 4.6 - 4.7), para el aspartato las diferencias no son significativas (Figura 4.9). La concentración de Taurina libre en la leche se mantiene a lo largo del estudio para el grupo de adolescentes, sin embargo, en el grupo de adultas la concentración disminuye con el tiempo de lactancia, siendo notablemente mayor en la etapa de calostro, las diferencias entre grupos no es significativa (Tabla 11, Figura 4.8).

Tabla 11. Concentración de Aminoácidos Libres ($\mu\text{M/dL}$) en la Leche de Materna de madres Adolescentes y Adultas

Parámetro	Adolescentes (N=39)		Adultas (N=26)		valor p	
	A	B	A	B	A	B
	$m \pm ri$		$m \pm ri$		$m \pm ri$	
AA Totales	110,3 \pm 141,7	228,3 \pm 79,8	105,2 \pm 69,8	272,0 \pm 56,7	0,8	0.04*
AA Esenciales	15,3 \pm 16,2	18,2 \pm 5,7	17,5 \pm 9,8	21,0 \pm 6,0	0.4	0.07
AA No-Esenciales	87,1 \pm 129,6	210,5 \pm 81,0	92,7 \pm 77,1	251,1 \pm 48,5	0.9	0.05*
Arginina	1,00 \pm 1,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	0.28	0.98
Histidina	1,50 \pm 1,00	2,00 \pm 0,00	2,00 \pm 1,00	2,00 \pm 0,50	0.24	0.27
Isoleucina	0,50 \pm 1,00	1,00 \pm 0,75	0,00 \pm 1,00	1,00 \pm 1,00	0.65	0.14
Leucina	1,00 \pm 1,00	2,00 \pm 1,00	1,00 \pm 1,00	2,00 \pm 0,50	0.64	0.77
Lisina	2,00 \pm 2,75	1,00 \pm 1,00	2,00 \pm 1,50	1,00 \pm 1,00	0.98	0.81
Metionina	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,01	0.16	0.34
Fenilalanina	0,00 \pm 1,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 1,00	1,00 \pm 0,00	0.47	0.64
Treonina	5,50 \pm 4,00	7,00 \pm 2,75	6,00 \pm 5,50	8,00 \pm 5,00	0.24	0.08
Triptofano	**	**	**	**	0.77	1.00
Valina	2,00 \pm 3,00	4,00 \pm 1,00	2,00 \pm 1,50	4,00 \pm 1,50	0.15	0.88
Acido Aspártico	3,00 \pm 4,75	4,00 \pm 5,50	2,00 \pm 2,00	6,00 \pm 3,00	0.44	0.54
Alanina	7,1 \pm 0,5	6,8 \pm 0,9	6,8 \pm 1,1	6,9 \pm 0,3	0.52	0,05*
Aspargina	1,00 \pm 1,00	0,00 \pm 1,00	1,00 \pm 1,00	0,00 \pm 2,00	0,01*	0.78
Cistina	1,00 \pm 0,00	2,50 \pm 2,50	1,00 \pm 1,00	2,00 \pm 1,50	0.63	0.85
Glicina	5,00 \pm 7,00	11,50 \pm 4,75	6,00 \pm 3,50	13,00 \pm 6,00	0.14	0.82
Glutamato	41,0 \pm 73,5	106,0 \pm 39,0	48,0 \pm 45,0	121,0 \pm 25,0	0.9	0.4
Glutamina	12,5 \pm 17,8	50,5 \pm 32,3	12,0 \pm 22,0	66,0 \pm 26,0	0.75	0,003*
Prolina	3,00 \pm 2,00	3,00 \pm 1,75	3,00 \pm 1,00	2,00 \pm 1,50	0.85	0.12
Serina	4,5 \pm 5,8	11,0 \pm 5,0	5,0 \pm 3,5	15,0 \pm 7,5	0.62	0,03*
Tirosina	1,00 \pm 1,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 1,00	1,00 \pm 0,50	0.67	0.31

* $P < 0.05$ entre grupos. Mann Whitney U-Test

m: mediana; ri: rango intercuartil

A: Inicio del estudio (5 d postparto)

B: Final del estudio (4 meses)

** Muestra no detectada por el equipo

DISCUSIÓN

Con el presente estudio se demostró que las madres adultas tienen un mejor nivel de escolaridad que las madres adolescentes. Adicionalmente, las madres adultas consumen una cantidad significativamente mayor de macronutrientes que las adolescentes. Al igual que previos estudios, las madres presentaron niveles séricos anormales de TC, TG, LDL y HDL después del parto, valores que alcanzaron la normalidad a los cuatro meses de lactancia para ambos grupos de estudio. Sin embargo, las concentraciones séricas de HDL fueron significativamente menores en las madres adolescentes lactantes a lo largo de todo el estudio. En cuanto a la concentración de aminoácidos libres, la leche materna madura de las madres adultas tuvo mayor concentración de aminoácidos totales y no esenciales que la leche de las madres adolescentes. Estas diferencias se deben principalmente a las altas concentraciones de glutamato y glutamina libres. Este es el primer reporte en el Ecuador que muestra las diferencias en las concentraciones de aminoácidos libres en la leche materna de madres adolescentes y adultas.

2.8 Características Demográficas

Existe mucha evidencia acerca de que los embarazos en mujeres adolescentes y adultas se relacionan con el nivel socio-económico pobre y con el nivel de educación bajo (Di Cesare Mariachiara, 2006). Los niveles de pobreza en América latina y el Caribe aún son elevados y a pesar de que han disminuido los niveles de mortalidad y fecundidad en estas regiones todavía se los considera muy altos (Di Cesare Mariachiara, 2006). Los cambios sociodemográficos en Latino América ha traído como consecuencia, aumento en las uniones libres, nacimientos fuera de matrimonio, aumento de embarazos en adolescentes y

mayores tasas de divorcios (Di Cesare Mariachiara, 2007). Estudios previos en países con características similares al Ecuador, indican que existe mayor riesgo de embarazos, en la población de adolescentes con niveles socioeconómicos y de escolaridad bajos, y esto conlleva a que en esta población existan mayores riesgos en la salud relacionados con el embarazo² y la lactancia tempranas (Escartín M., 2011; UNFPA, Prevención del embarazo adolescente, 2010). En América latina y el Caribe el riesgo de morir antes, durante y después del embarazo es cuatro veces mayor en las mujeres adolescentes que en las adultas (UNFPA, Prevención del embarazo adolescente, 2010). En el Ecuador dos de cada tres mujeres adolescentes de entre 15 y 19 años están embarazadas o ya han tenido un hijo y esta tendencia sigue en aumento. De la región andina el Ecuador es el país con más altos porcentajes de mujeres adolescentes embarazadas (74% en menores de 15 años y 9% en mayores de 15 años). (UNFPA, Prevención del embarazo adolescente, 2010). Los niños que nacen de una madre adolescente tienen el 50 % más riesgo de morir tempranamente que los nacidos de una madre adulta, además existen mayores tasas de nacimientos de niños pre término y de bajo peso en este grupo de madres (UNFPA, Prevención del embarazo adolescente, 2010). Estos factores influyen en el estado nutricional y en las prácticas de lactancia en las madres adolescentes y adultas (Escartín M., 2011).

² Anemia, Hemorragias, Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), abortos, depresión, abandono temprano de la lactancia, entre otras.

2.9 Estado Nutricional:

Química Sanguínea, Antropometría, Consumo de Nutrientes

Además de los datos demográficos se obtuvo información de la química sanguínea, antropometría y consumo de nutrientes de las madres participantes, con estos datos se puede tener una información más integral del estado nutricional de las madres.

Las madres no alcanzan los valores de referencia en cuanto al consumo de calorías totales durante todo el estudio. Ninguna madre presentó valores anormales en cuanto al consumo de carbohidratos durante todo el estudio, de hecho ambos grupos incrementaron el consumo de este macronutriente al final del estudio. En cuanto al consumo de grasa, se tiene que las madres incrementaron su consumo al final del estudio. Las madres adolescentes tienen un deficiente consumo de proteína después del parto en relación a las madres adultas que se mantienen con un consumo adecuado durante todo el estudio.

Los resultados obtenidos con el análisis bioquímico de la sangre de madres adolescentes y adultas, en cuanto al metabolismo de lípidos, concuerdan con estudios previos que indican que las madres se encuentran en un estado transitorio de hiperlipidemia después del parto, pero que regresa a su estado normal con el tiempo de lactancia (Herrera, 2002). Los cambios hormonales que se producen durante el embarazo, como: resistencia a la insulina e incremento plasmático de estrógenos, provocan este perfil lipídico “anormal” después del parto (Sivan et. al., 1999). Estudios previos demuestran que los niveles plasmáticos maternos de HDL, LDL y colesterol total, no están correlacionados con las concentraciones de estas lipoproteínas en el feto durante el embarazo, además de ejercer una escasa influencia en el desarrollo normal del embarazo (Parker CR et. al., 1983). Sin embargo, la composición lipídica sérica de la madre, afecta directamente el contenido lipídico en la leche materna. De hecho, en este estudio se observó un incremento en el contenido lipídico

sérico de la madre en las primeras semanas de lactancia, lo que aseguraría una importante fuente energética para el infante durante este período crítico de crecimiento. (Su LL et. al., 2010; Francois et.al., 1998). En otros estudios se demuestra que la actividad de la lipoproteinlipasa (LPL) durante la lactancia es mucho mayor en la glándula mamaria que en los tejidos periféricos, lo que facilita el metabolismo de las grasas dentro de la glándula. (Subcommittee on Nutrition, 1991; Hamosh M et. al., 1970).

Con respecto a las concentraciones de HDL, se observó en las madres adolescentes valores anormales durante todo el estudio y no alcanzaron la normalidad hacia el final del estudio, no así las madres adultas cuya concentración de HDL al inicio y al final del estudio permaneció dentro de los rangos normales de referencia. En relación al contenido de proteína sérica, en el presente estudio se encontró que dicha concentración fue significativamente mayor en las madres adolescentes, independientemente del bajo contenido de proteína procedente de la ingesta materna. Estos datos indicarían que las madres adolescentes experimentaron un incremento en el catabolismo proteico con incremento del recambio (“turnover”) proteico durante la lactancia temprana.

En cuanto a los minerales clínicamente importantes analizados, hierro y calcio, se observó que después del parto las concentraciones de hierro plasmático son bajas para ambos grupos de estudio y se regulan hacia el final del estudio. Estos niveles de hierro relativamente bajos al inicio del estudio podrían ser resultado de la pérdida de sangre durante el parto. En relación al calcio no existieron cambios en las concentraciones plasmáticas durante el estudio. Es necesario aclarar que las madres participantes consumieron suplementos multivitamínicos y minerales durante el último trimestre del embarazo. Esto indicaría que el estado nutricional de las madres no alcanza los valores

óptimos necesarios para mantener la lactancia y las necesidades nutricionales de las mismas.

2.10 Aminoácidos Libres en la Leche Materna

Los datos encontrados nos indican que existen importantes diferencias en la composición de aminoácidos libres en la leche materna de madres adolescentes y adultas. Existen muchas evidencias que indican que los aminoácidos libres en la leche materna tienen una importancia fisiológica en el desarrollo del infante especialmente los AA no esenciales (Ventura AK, et al., 2012, Angostoni et. al., 2000), además de ser importantes para el desarrollo y funcionamiento del tracto gastrointestinal del infante lactante (Jochum F et.al., 2006). De acuerdo con otros estudios, la concentración de los aminoácidos libres no esenciales en la leche de madres adultas, aumentó significativamente con el tiempo de lactancia (Angostoni et. al., 2000; Chuang CK et. al.,2005). En el presente estudio se evidenció que la concentración de AA libres no esenciales fue significativamente mayor en la leche materna de las madres adultas. Esta diferencia se debió principalmente a las elevadas concentraciones de glutamato y glutamina presentes en la leche de las madres adultas a los cuatro meses de lactancia. Las madres adolescentes presentaron concentraciones significativamente menores de glutamato y glutamina en su leche. En cuanto a los AA esenciales, se observó una pequeña y continua variación en las concentraciones durante el estudio, probablemente debida a la naturaleza propia de estos aminoácidos ya que deben estar presentes de una forma constante en la leche materna para proporcionar al lactante de todos sus requerimientos para un crecimiento normal. (Wu ZC et. al., 2000). Debido a las importantes funciones fisiológicas del glutamato y la glutamina en el desarrollo del intestino en las etapas tempranas de vida del infante, es importante considerar las posibles implicaciones de una baja ingesta de estos AA en los bebés de

madres adolescentes. Un limitado consumo de glutamato y glutamina podría afectar el ya demostrado efecto estimulador de multiplicación y diferenciación de las células epiteliales intestinales (Weiss MD, et al., 1999; Burrin DG, et al., 2008). El glutamato es un precursor en la síntesis de ADN y un consumo limitado de este AA afectaría negativamente el rápido recambio (“turnover”) de las células epiteliales intestinales (Newsholme P, et al., 2003). De igual manera, otras funciones especializadas que realizan las células epiteliales intestinales como la síntesis de disacaridasas, la formación de microvellosidades y el “closure” del epitelio, se podrían ver afectadas por el bajo consumo de glutamato y glutamina (Weiss MD, et al., 1999). La disponibilidad limitada de glutamato en el epitelio intestinal podría resultar en una disminución del mayor combustible oxidante para el epitelio intestinal que ampliamente metaboliza este AA para generar ATP (Burrin DG, et al., 2008; Newsholme P, et al., 2003). Condiciones clínicas en el infante como muy bajo peso al nacer, ocurre por la limitada disponibilidad de glutamina, ocasionando una disminución en la integridad del intestino e inmunosupresión. La administración enteral de glutamina bajo estas condiciones, disminuye la morbilidad infecciosa en estos niños (Van der Berg A, et al., 2005). Recientes estudios han identificado un nuevo papel del glutamato al consumir este nutriente. Estudios animales y humanos apoyan la idea de que el glutamato dentro del intestino podría actuar como un “transmisor de alimento” en el intestino enviando señales al sistema nervioso central del sabor Umami en presencia de proteína (San Gabriel A, et al., 2007; Uneyama H, 2011). Existen receptores específicos para el glutamato en la lengua y en el estómago que provocan la activación principalmente del nervio vago, lo que resulta en un incremento de la secreción gástrica y modulan la motilidad gástrica, lo que aumenta la digestión proteica (Uneyama H, et al., 2006). Adicionalmente, el estímulo del glutamato en el intestino podría regular la ingesta de alimentos limitado la cantidad de alimentos

consumidos. Es así, que en ratas que consumían voluntariamente 1% de glutamato monosódico (MSG) en solución, tuvieron una ganancia de peso menor, redujeron la grasa visceral y los niveles en plasma de leptina disminuyeron, comparadas con las ratas que no consumieron MSG (Kondoh T, Torii K, 2008). En un estudio clínico reciente, los niños que consumieron fórmula proteica hidrolizada (rica en glutamato) o fórmula a base de leche de vaca suplementada con MSG, consumieron una significativa menor cantidad de fórmula que los niños que consumieron fórmula a base de leche de vaca solamente (Ventura AK, et al., 2012). Estos datos, sugieren que el glutamato libre podría ser parte del eje intestino-SNC que regula la digestión de proteínas y la ingesta alimenticia. La presencia de glutamato libre en la leche materna podría contribuir a la homeostasis del infante lactante, regulando el desarrollo del intestino y la ganancia de peso. Como las bajas concentraciones de glutamato y glutamina libres en la leche materna de las madres adolescentes observadas en el presente estudio afectarían las funciones fisiológicas indicadas, es un tema que necesita ser tratado.

3. CONCLUSIONES

El presente trabajo evidencia en general un estado nutricional deficiente en las madres adolescentes a lo largo de todo el estudio. Los niveles socioeconómicos bajos, la falta de educación, la dificultad para conseguir empleo, el estado civil de las madres participantes, especialmente de las adolescentes, son factores determinantes en el momento de definir sus hábitos nutricionales y de lactancia.

La mayoría de las madres participantes son mestizas, solteras, de nivel socio-económico bajo, con niveles de escolaridad bajos especialmente las adolescentes.

Se observó una disminución significativa de colesterol total, TG, LDL entre la primera semana y cuarto mes de lactancia.

En cuanto a las concentraciones de HDL, las madres adolescentes presentaron valores muy bajos a lo largo del estudio, habría que pensar lo que significaría a largo plazo mantener estos niveles bajos de HDL en la madre adolescente y si esto podría ser un factor de riesgo para una enfermedad cardiovascular a futuro y si estos valores bajos se deberían a factores de tipo hormonal.

Se observó una mayor concentración de proteínas séricas entre las madres adolescentes después del parto, a pesar de que la proteína proveniente del consumo de alimentos es baja en este grupo de madres después del parto, esto podría ser debido a un incremento en el recambio (turnover) proteico.

Las concentraciones de hierro sérico dentro del grupo de madres adolescentes y adultas fueron bajas en la primera semana, y se normalizó hacia los cuatro meses de lactancia, esto puede deberse a las pérdidas de sangre durante el parto.

Se determinó un mayor consumo de macronutrientes en las madres adultas tanto al inicio como a los 4 meses de lactancia. Esta diferencia fue estadísticamente significativa en el consumo de grasa.

El consumo de folato en las madres adultas al inicio y al final del estudio es superior que el de las madres adolescentes.

En cuanto al consumo de calcio y vitamina A en ambos grupos de estudio se encontró deficiencia de estos nutrientes durante todo el estudio.

El consumo de hierro al inicio del estudio está por debajo de los valores de referencia, pero se normalizan a los cuatro meses de lactancia para ambos grupos.

Similar a otros estudios, las concentraciones de aminoácidos (AA) libres totales en la leche materna se incrementó con el tiempo de la lactancia, observándose concentraciones mayores AA libres en la leche de madres adultas a los cuatro meses de lactancia.

Las concentraciones de aminoácidos no-esenciales en la leche materna se incrementaron con el tiempo de la lactancia, observándose concentraciones mayores de AA no-esenciales en la leche de madres adultas a los cuatro meses de lactancia. Esto debido a la mayor concentración de glutamato y glutamina de la leche materna.

Similar a otros estudios, las concentraciones de glutamina y glutamato en la leche materna se incrementó con el tiempo de la lactancia, observándose concentraciones mayores de glutamina en la leche de madres adultas a los cuatro meses de lactancia mientras que se observó un incremento transitorio de glutamato en la leche de transición de las madres adolescentes en comparación con las madres adultas.

Las diferencias demográficas, consumo de alimentos, química sanguínea, y de las concentraciones de aminoácidos libres en la leche materna pueden contribuir al incremento de los riesgos médicos y de nutrición de las madres adolescentes y sus lactantes.

Las diferencias observadas en el contenido de aminoácidos libres entre la leche materna de madres adultas y adolescentes deben tomarse en cuenta en la clínica pediátrica y la industria alimentaria para el uso adecuado de las leche de fórmula.

Se requieren más estudios que permitan evaluar como las variaciones en las concentraciones de glutamato/glutamina podrían modular la maduración de los lactantes tanto en condiciones fisiológicas como en estados patológicos.

Es importante instruir a las madres lactantes en general y a las adolescentes en particular sobre la necesidad de tener una buena dieta durante el periodo de lactancia y así evitar problemas de nutrición y médicos posteriores.

La lactancia materna durante los seis primeros meses de vida, disminuye la morbilidad y mortalidad infantil.

Los infantes lactantes necesitan menos cuidados intensivos perinatales y menos cuidados médicos continuos lo que significa para las familias y para el estado en general ahorro de costos.

La lactancia prolongada mejora el desarrollo intelectual y mejora las capacidades de aprendizaje de los niños, lo que conlleva al mejoramiento futuro de la productividad de un país.

4. RECOMENDACIONES

Es indispensable revisar los programas que se llevan a cabo actualmente en el Ecuador, sobre la prevención del embarazo en adolescentes, pues esta es la clave para romper el círculo de la pobreza, incrementar la educación, disminuir las muertes materno-infantiles y alcanzar un desarrollo físico, social, personal, educativo y profesional en este grupo tan vulnerable como son los adolescentes.

Se debe unificar los objetivos y las estrategias para hacerlas participativas tanto las instituciones gubernamentales como las instituciones educativas, enseñando a los adolescentes a ejercer una sexualidad saludable y sobre todo responsable.

Se debe promover programas de nutrición especiales, dirigidos a mujeres, lactantes y niños, donde se maneje consejería nutricional y se eduque a esta población sobre la importancia de la alimentación en todas las etapas de la vida.

Se debe contar con instituciones de fácil acceso para la población, donde se dé información a las futuras madres sobre la importancia de la nutrición antes, durante y después del embarazo, para evitar problemas en la salud de la madres y sus hijos, de esta manera se conseguiría disminuir las tasas de mortalidad y morbilidad materno- infantil.

Es importante que las madres embarazadas consuman suplementos multivitamínicos bajo vigilancia médica, durante el embarazo y después durante la lactancia, para poder mantener un aporte adecuado de calorías, macronutrientes y micronutrientes durante la lactancia y satisfacer las grandes demandas nutricionales que el organismo requiere durante este período crítico de tiempo.

Se debe incrementar en todos los hospitales Bancos de Leche humana y promover políticas públicas que incentiven la lactancia materna y beneficien a la salud materno-infantil.

Se debería analizar las concentraciones de glutamato en la leche materna pasteurizada del banco de leche de la maternidad Isidro Ayora de Quito.

Las diferencias observadas en el contenido de aminoácidos libres entre la leche materna de madres adultas y adolescentes deben tomarse en cuenta en la clínica pediátrica y la industria alimentaria para el uso adecuado de las leches de fórmula.

Se sugiere realizar un estudio similar pero en poblaciones diferentes, esto es con madres afro descendientes, indígenas, de otros niveles socioeconómicos (medio-alto/alto).

Se sugiere caracterizar por grupos de edades a las madres adolescentes, entre 12-15 años un grupo, entre 16-19 años otro grupo, y de igual manera las madres adultas, entre 20-25 un grupo y 26 en adelante otro grupo.

Además de incrementar el tiempo de seguimiento a las madres por lo menos de un año.

Se debe tomar muy en cuenta los valores encontrados en las concentraciones de HDL en las madres adolescentes y proponer la realización de un estudio donde se relacione el riesgo de infarto de miocardio en madres adolescentes.

Se podría estudiar como las variaciones en las concentraciones de glutamato/glutamina modulan la respuesta inmune a nivel de las mucosas.

También se debería estudiar las variaciones en las concentraciones de glutamato /glutamina en los estados fisiológicos y patológicos de los lactantes.

Con la realización del presente estudio se ha dado pautas importantes para la continuidad del mismo, se sugiere tomar en cuenta estos resultados y proponer de esta manera nuevos estudios que sigan contribuyendo y aportando importante información para el desarrollo de la ciencia y el progreso del país.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Agostoni C(a), Carratu B, Boniglia C, Lammardo AM, Riva E, Manzini E. Free glutamine and glutamic acid increase in human milk through a three-month lactation period. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;31:508-12.
2. Agostoni C (b), Carratù B, Boniglia C, Riva E, Sanzini E. Free amino acid content in standard infant formulas: comparison with human milk. *J Am Coll Nutr.* 2000;4:434-38.
3. Allen LH, Maternal Micronutrient malnutrition: effects on breast milk and infant nutrition, and priorities for intervention. *SCN News.* 1994;11:21-4.
4. American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* 2005;115:496-506.
5. Baldeón ME, Gaskins HR Diabetes and immunity. In: Gershwin ME, German B, Keen CL. *Nutrition and Immunology Principles and Practice.* Totowa, NJ: Humana Press; 2000. p. 301-11.
6. Barry JM. The use of glutamine and glutamic acid by the mammary gland for casein synthesis. *Biochem J.* 1956;63:669-76.
7. Brown Judith E. *Nutrition Through the Life Cycle, Second Edition,* Thomson Wadsworth, USA
8. Burrin DG, Janeczko MJ, Stoll B. Emerging aspects of dietary glutamate metabolism in the developing gut. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17:368-71.
9. Burrin DG, Stoll D. Key nutrients and growth factors for the neonatal gastrointestinal tract. *Clin Perinatol.* 2002;29:65-96.
10. Calder PC, Krauss-Etschmann S, de Jong EC, Dupont C, Frick JS, Frokiaer H, Heinrich J, Garn H, Koletzko S, Lack G, Mattelio G, Renz H, Sangild PT, Schrezenmeir J, Stulnig TM, Thymann T, Wold AE, Koletzko B. Early nutrition and immunity - progress and perspectives. *Br J Nutr.* 2006;96:774-90
11. Castellote C., Casillas R., Ramirez-Santana C., Pérez-Cano F., Castell M., Moretones G., López-Sabater C., Franch A. Premature Delivery Influences the Immunological Composition of Colostrum and Transitional and Mature Human Milk. *J Nutr.* 2011;141:1181-1187.
12. Cebra J. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (Supl):1046S-51S

13. Cevallos Mónica et al. Embarazo en adolescentes que acuden al Hospital Gineco-Obstétrico Isidro Ayora de Quito. *Revista Ecuatoriana de Pediatría*. 2007;8:2.
14. CEPAL-Ecuador. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Indicadores, 2010. www.cepal.org/cgi-bin/getProd.asp?xml=/mujer/...
15. CEPAL. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Estadísticas de América latina y el Caribe, CEPAL-STAT, abril 2012.
16. Chantry CJ, Howard CR, Auinger P. Full breast feeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children. *Pediatrics*. 2006;117:425-32.
17. Chierici R, Saccomandi D, Vigi V. Dietary supplements for lactating mother: influence on the trace element content of milk. *Acta Paediatr Suppl*. Aug. 1999;88(430):7-13.
18. Chuang C-K, Lin SP, Lee HC, Wang TJ, Shih YS, Huang FY, Yeung CY. Free amino acids in full-term and pre-term human milk and infant formula. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:496-500.
19. Coëffier M, Miralles-Barrachina O, Le Pessoa F, Lalaude O, Daveau M, Lavoinnie A, Lerebours E, Déchelotte P. Influence of glutamine on cytokine production by human gut in Vitro. *Cytokine*. 2001;13:148-54.
20. Commare CE, Tappenden KA Development of the infant intestine: implications for nutrition support. *Nutr Clin Pract*. 2007;22:159-73.
21. De La Cochetière MF, Rougè C, Darmaun D, Roze JC, Potel G, Leguen CG. Intestinal microbiota in neonates and preterm infants: a reievw. *Curr Pediatr Rev*. 2007;3:21-34.
22. Di Cesare, Mariachiara (2006), “Estudio sobre patrones emergentes en la fecundidad y la salud sexual y reproductiva y sus vínculos con la reducción de la pobreza en América Latina”, documento presentado a la Reunión de expertos sobre población y pobreza en América Latina y el Caribe, Comisión Económica para América Latina y el Caribe, (CEPAL), Santiago de Chile, 14 y 15 de noviembre.
23. Di Cesare, Mariachiara (2007), Patrones Emergentes en la Fecundidad y la Salud Reproductiva y sus vínculos con la pobreza en latino América y el Caribe, Centro Latinoamericano y Caribeño de Demografía (CELADE) – División de Población de la CEPAL, Santiago de Chile, enero 2007
24. ENDEMAIN. Centro de Estudios de Población y Desarrollo Social. Encuesta Demográfica y de Salud Materna e Infantil, Ecuador, 2004, Informe Final. Quito. CEPAR; octubre 2005

25. Escartín M, Vega G, Torres O, Manjarrez C. Comparative study of teenase and adults in rural communities of the state of Queretaro. *GinecolObstet Mex.* 2011;79:131-136.
26. Ettyang GA, et al. Assessment of body composition and breast milk volume in lactating mothers in pastoral communities in Pokot, Kenya, using deuterium oxide, *Ann Nutr Metab*, Mar-Apr 49(2): 110-7, Epub 2005 Mar 29.
27. Ferreira IM. Quantification of non-protein nitrogen components of infant formulae and follow-up milks: comparison with cow's and human milk. *Br J Nutr.* 2003;7:1-23.
28. Field CJ. The Immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J Nutr.* 2005;135:1-4.
29. Fontana L, Saez MJ, Bailon RS, Gil A. Compuestos nitrogenados de interés en nutrición clínica. *Nutr Hosp* 2006; 21:15-29
30. Fornasini M, Castro J, Villacrés E, Narváez I, Villamar MP, Baldeón ME. Hypoglycemic effect of *Lupinusmutabilis* in healthy volunteers and subjects with dysglycemia. *Nutr Hosp.* 2012;27:425-33.
31. Francois CA, Connor SL, Wander RC, Connor WE. Accute effects of dietary acids on the fatty acids of human milk. *Am J Clin Nutr.* 1998;67:301-08.
32. Gil A, Rueda R. Interaction of early diet and the development of the immune system. *Nut Res Rev.* 2002;15:263-292
33. Goldman A. The Immune System in Human Milk and the Developing Infant. *Breastfeeding Medicine* 2007.
34. Gree FR. Feeding the premature infant in the 20th century. *J Nutr* 2001; 131: 426S-30S
35. Grosvenor CE, Picciano MF, Baumrucker CR (1993) Hormones and growth factors in milk *Endocr Rev*, 6:710-728
36. Hall JC, Dobb G, Hall J, de Sousa R, Brennan L, McCauley R. A prospective randomized trial of enteral glutamine in critical illness. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1710-6
37. Hamosh M, Clary TR, Chernick SS, Scow RO. Lipoprotein lipase activity of adipose and mammary tissue and plasma triglyceride in pregnant and lactating rats. *Biochim Biophys Acta.* 1970;210:473-82.
38. Hanson LA. Feeding and infant development breast-feeding and immune function, *Proc. Nutr. Soc.* 2007;384-396.

39. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, Welling GW. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30(1): 61-7
40. Herrera E. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. *Endocrine*. 2002 ;19:43-55.
41. HGO. Hospital Gineco Obstétrico Isidro Ayora. Estadísticas Informe 2010. <http://hgoia.med.ec/est2010.html> (consulta: febrero 2012)
42. Howie PW, Forsyth JS, Ogston SA, Clark A, du V Florey C. Protective effect of breast feeding against infection. *Br Med J* 1990; 300: 11-16
43. Jochum Frank, et al. Total Glutamine content in human milk is not influenced by gestational age. *Acta Paediatrica*. 2006;95:985-90.
44. Koletzko B, Aggett PJ, Bindels JG, Bung P, Ferre P, Gil A, Lentze MJ, Roberfroid M, Strobel S. Growth, development and differentiation: a functional food science approach. *Br J Nutr*. 1998;80:S5-S45.
45. Lawrence R. *Lactancia Materna: Una Guía para la Profesión Médica*, 6 ed., Elsevier-Espana, 2007.
46. Lenders CM, McElrath TF, Scholl TO. Nutrition in adolescent pregnancy. *Curr Opin Pediatr*. 2000;12:291-96.
47. Li J, King BK, Janu PG, Renegar KB, Kudsk KA. Glycyl-L-glutamine enriched total parenteral nutrition maintains small intestine gut associated lymphoid tissue and upper respiratory tract immunity. *Journal of Parenteral and Enteral Nutr*. 1998;22:31-36.
48. Li N, Lewis P, Samuelson D, Liboni K, Nue J. Glutamine regulates Caco-2 tight junction protein. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004;287:G729-G33.
49. Liu T, Jian P, Xiong Yz, Cheng Xh. Effects of dietary glutamine and glutamate supplementation on small intestinal structure, active absorption and DNA, RNA concentration in skeletal muscle tissue of weaned piglets during d 28 to 42 of age. *Asian-Aust J Anim Sci* 2002; 15: 238-42
50. Lönnerdal B. Nutricional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr*. 2003;77:1537S-43S.
51. Ma Y, Olendzki BC, Pagoto SL, Hurley TG, Magner RP, Ockene IS, Schneider KL, Merriam PA, Hébert JR. Number of 24-hour diet recalls needed to estimate energy intake. *Ann Epidemiol*. 2009;19:553-559.

52. Mackay IR, Rosen FS. Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases. *N Engl J Med.* 2001;345:1331-35.
53. Manhart N, Vierlinger K, Spittler A, Bergmeister H, Rothe E. Effects of orally administered glutamine on lymphocyte subpopulations in Peyer's patches in endotoxin boosted mice. *Immunol Lett.* 1999;69:25-33.
54. Mannion CA, et al (2007), Lactating women restricting milk are low on select nutrients, *J Am Coll Nutr.*, Apr:26(2):149-55.
55. McCracken VJ, Lorenz RG. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell Microbiol.* 2001;3:1-11.
56. Marante J, Rodríguez R. Usos de la Glutamina en pediatría. *MedUNAB.* 2005;8 (1 Supl1):S37-S42.
57. Mackie R, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr.* 1999;69S:1035S-45S.
58. Mahan Kathleen, Escott-Stump. *Krause's Food and Nutrition Therapy.* Barcelona:Elsevier-España, 2009
59. Mataix Verdú J. *Nutrición y Alimentación Humana.* Barcelona-España, Ed.Océano/Ergón, 2005
60. Melbourne T, Routh R, Yudkoff M, Nissim I. The glutamine/glutamate couplet and cellular function. *News Physiol Sci.* 2001;16:157-60.
61. Moran VH. Nutritional Status in pregnant adolescents: a systematic review of biochemical markers. *Matern Child Nutr.* 2007;Apr:3(2):74-93.
62. Motil KJ, Kertz B. Lactational performance of adolescent mothers shows preliminary differences from that of adult women. *J Adolesc Health.* 1997Jun; 20(6):442-9.
63. Lenders CM, McElrath TF, Scholl TO. Nutrition in adolescent pregnancy. *Curr Opin Pediatr.* 2000Jun;12(3):291-6.
64. Neu J. Glutamine in the fetus and critically ill low birth weight neonate: metabolism and mechanism of action. *J Nutr.* 2001;131:2585S-9S.
65. Newburg DS, Walter WA. Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. *Pediatr Res.* 2007;61:2-8.

66. Newburg DS, Street JM. Bioactive materials in human milk, milk sugars sweeten the argument for breast-feeding. *Nutr Today*. 1997;32:191-201.
67. Newsholme P, Lima MM, Procopio J, Pithon-Curi TC, Doi SQ, Bazotte RB, Curi R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36:153-63.
68. Noguchi Y, Zhang QW, Sugimoto T, Furuhashi Y, Sakai R, Mori M, Takahashi M and Kimura T. "Network analysis of plasma and tissue amino acids and the generation of an amino index for potential diagnostic use". *Am J Clin Nutr*. 2006;83:513S-19S.
69. OMS-UNICEF. Organización Mundial de la Salud. Estrategia Mundial para la Alimentación del Lactante y del Niño pequeño. Programas y Proyectos. Ginebra. 2003;7-12: ISBN92415622187-12.
70. OMS. Organización Mundial de la Salud (OMS). La lactancia materna Exclusiva. Ginebra, 2011
71. OMS. Organización Mundial de la Salud. Diez datos sobre Lactancia Materna, Reportaje, Febrero, 2012
72. OMS. Organización Mundial de la Salud. Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic reviews and meta-analyses. Geneva: World Health Organization, 2007
73. Organización Mundial de la Salud (OMS). El Estado Físico: uso e interpretación de la antropometría. Serie de Informes técnicos, 854. Ginebra (Suiza), 1995.
74. Organización Mundial de la Salud (OMS). Embarazo en Adolescentes: Un problema culturalmente complejo, Boletín de la OMS, volumen 89, 2009
75. Organización Mundial de la Salud (OMS). Underweight, short stature, overweight in adolescents and young women in Latin America and the Caribbean, 2003
76. Organización de las Naciones Unidas (ONU), Objetivos de desarrollo del Milenio, Informe, 2010.
77. OIJ-CEPAL. Organización Iberoamericana de la Juventud y la Comisión Económica para América Latina. Reproducción adolescente y desigualdades en América Latina y el Caribe: un llamado a la reflexión y a la acción, 2008
78. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Salud en las Américas, volumen II, 2007

79. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Normas de Atención de Salud Sexual y Reproductiva de Adolescentes, Washington D.C., 2005.
80. Pamblanco M, Portolés M, Paredes C, Ten A, Comín J. Free aminoacids in preterm and term milk from mothers delivering appropriate- or small-for-gestational-age infants. *Am J Clin Nutr.* 1989;50:778-81.
81. Parker CR Jr, Deahl T, Drewry P, Hankins G. Analysis of the potential for transfer of lipoprotein-cholesterol across the human placenta. *Early Hum Dev.* 1983;8(3-4):289-95.
82. Perin NM, Clandinin T, Thomson BR. Importante of milk and diet on the ontogeny and adaptation of the intestine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;24:419-25.
83. Plauth M, Schneider BH, Raible A, Hartmann F. Effects of vascular or luminal administration and of simultaneous glucose availability on glutamine utilization by isolated rat small intestine. *Int J Colorect Dis.* 1999;14:95-100.
84. Polin RA, Fox WW, Abman SH. *Fetal and Neonatal Physiology*, 3 ed., Philadelphia, Pennsylvania, Ed. Elsevier. 2004.
85. Rakicioglu N, Samur G, et al. The effect of Ramadan on maternal nutrition and composition of breast milk. *Pediatr Int.* 2006Jun;48(3):278-83.
86. Ramírez R., Hidalgo L., Chedragui P., Gonzaga M. Factores Etiológicos y Epidemiológicos en Adolescentes Embarazadas. Ecuador, 2007
87. Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B, Jarro F. Intestinal glutamate metabolism. *J Nutr.* 2000;130:978S-82S.
88. Reeds PJ, Burrin DG. Glutamine and the Bowel. *J Nutr.* 2001;131:2505S-8S.
89. Riveron RC. Valor inmunológico de la leche materna. *Rev Cubana Pediatr.* 1998;67:2.
90. San Gabriel A, Maekawa T, Uneyama H, Yoshie S, Torii K. mGLuR1 in the fundic glands of rat stomach. *FEBS Letter.* 2007;581:1119-23.
91. Sarwar G, Botting HG, Davis TA, Darling P, Pencharz PB. Free amino acids in milks of human subjects, other primates and non-primates. *Brit J Nutr.* 1998;79:129-31.
92. Sherman MP. Human milk, fatty acids, and the immune response: a new glimpse. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:1071-2.

93. Singh P, Saxena SK. Free Glutamic acid content of milk in Indian Mothers. *Indian J Physiology Pharmacology*. 2004;48:365-9.
94. Spitzer AR. *Intensive care of the fetus and neonate*. St. Louis: Mosby-yea; 1996.
95. Sivan E, Homko CJ, Chen X, Reece EA, Boden G. Effect of insulin on fat metabolism during and after normal pregnancy. *Diabetes*. 1999 Apr;48(4):834-8.
96. Su LL, SKTC, Lim SL, Chen Y, Tan EA, Pai NN, Gong YH, Foo J, Rauff M, Chong YS. The influence of maternal ethnic group and diet on breast milk fatty acid composition. *Ann Acad Med Singapore*. 2010;39:675-85.
97. Subcommittee on Nutrition During Lactation, Food and Nutrition Board. *Nutrition during lactation*. Washington, DC: National Academy Press, 1991.
98. Udipti SA, Ghugre P, Antony U. Nutrition in pregnancy and lactation, *Journal Indian Med Assoc*, sep. 2000;98(9):548-57.
99. UNFPA. Fondo de Población de las Naciones Unidas. *Estado de la Población Mundial 2011*.
100. UNFPA-Ecuador. Fondo de Población de las Naciones Unidas – Ecuador. *Plan Nacional de Prevención de Embarazo en Adolescentes, 2008*
101. UNFPA Fondo de Población de las Naciones Unidas. *Prevención del Embarazo Adolescente, 2010*
102. UNICEF, *The state of Latin American and Caribbean Children, Child Survival*
103. Uneyama H. Nutritional and physiological significance of luminal glutamate-sensing in the gastrointestinal functions. *Yakugaku Zasshi*. 2011;131:1699-1709.
104. Uneyama H, Nijima A, San Gabriel A, Torii K. Luminal amino acid sensing in the rat gastric mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;291:G1163-70.
105. Van den Berg A, Van Elburg RM, Westerbeek EA, Twisk JW, Fetter WP. Glutamine-enriched enteral nutrition in very-low-birth-weight infants and effects on feeding tolerance and infectious morbidity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2005;81:1397-1404.
106. Ventura AK, Beauchamp GK, Mennella JA. Infant regulation of intake: the effect of free glutamate content in infant formulas. *Am J Clin Nutr*. 2012;95:875-881.

107. Viña J(a), Puertes IR, Estrela JM, Viña JR, Galbis JL. Involvement of gamma-glutamyltransferase in amino-acid uptake by the lactating mammary gland of the rat. *Biochem J.* 1981;194:99-102.
108. Viña JR, Puertes IR, Rodríguez A, Saez GT, Viña J. Effect of fasting on amino acid metabolism by lactating mammary gland: studies in women and rats. *J Nutr.* 1987;117:533-538.
109. Viña JR(b), Williamson DH. Utilization of L-arginine and L-glutamine by lactating mammary gland of the rat. *Biochem J.* 1981;196:757-62.
110. Ward PP, Uribe-Luna S, Conneely OM. Lactoferrin and host defense. *Biochem Cell Biol.* 2002;80:95-102.
111. Weiss MD, DeMarco V, Strauss DM, Samuelson DA, Lane ME, Neu J. Glutamine synthetase: a key enzyme for intestinal epithelial differentiation. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1999;23:140-46.
112. Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *J Nutr.* 1988;128:1249-1252.
113. Wu ZC, Chijang CC, Lau BH, Hwang B, Sugawara M, Idota T. Crude protein content and amino acid composition in Taiwanese human milk. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2000;46(5):246-251.
114. Xu R-J. Development of the new born GI tract and its relation to colostrum/milk intake: a review. *Reprod Fertil Dev.* 1996;8:35-48.
115. Ying Huang, Xiao Shao, Josef Neu. Immunonutrients and neonates, *Eur J Pediatr.* 2003;162:122-128.
116. Zinkernagel RM. Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases. *N Engl J Med.* 2001;345:1331-5.

6. GLOSARIO DE SIGLAS

AA	Aminoácidos
AAL	Aminoácidos Libres
ADN	Acido Desoxi Ribonucléico
CEPAL	Comisión Económica para América Latina y el Caribe
E.Coli	Escherichia Coli
ENDEMAIN	Encuesta Demográfica y de Salud Materna e Infantil
GALT	Gut associated lymphoid tissue
HDL	High Density Lipoprotein (Lipoproteínas de alta densidad)
HPLC	High-performance liquid chromatography
ITS	Infecciones de Transmisión Sexual
Ig	Inmunoglobulinas
IFN- γ	Interferón gamma
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
IGF-I	Factor de crecimiento insulínico
IL	Interleucinas
IMC	Índice de Masa Corporal
LDL	Low Density Lipoprotein (Lipoproteínas de baja densidad)
MSG	Monosodium glutamate (glutamato monosodico)
NK	Natural Killer
NNP	Nitrógeno No Proteico
OIJ	Organización Iberoamericana de la Juventud
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PC	Perímetro Cefálico
UMA	Unidad de Masa Atómica
UNFPA	Fondo de Población de las Naciones Unidas
UNICEF	United Nations International Children's Emergency Fund (Fondo Internacional de Ayuda a la Infancia)
TG	Triglycerides (Triglicéridos)
VIH	Virus de Inmuno deficiencia Humana

ANEXOS

Anexo 1: Tarjeta de Identificación de las Madres Participantes

TARJETA DE IDENTIFICACIÓN	
ANÁLISIS DE GLUTAMATO EN LECHE MATERNA	
GRUPO 1:	Mujeres primíparas adolescentes (11 - 19 años)
NÚMERO DE INCLUSIÓN	
FECHA DE INCLUSIÓN (año-mes-día)	
NOMBRE DE LA MADRE	
EDAD	
GRUPO ÉTNICO	
(indígenas, blanco, negro, mestizo)	
DIRECCIÓN	
TELÉFONO	
E-MAIL (opcional)	
TIEMPO DE GESTACIÓN (al nacer)	
FECHA DEL PARTO (año-mes-día)	
SEXO DEL BEBÉ	
PESO AL NACER (g)	
PARIDAD	
TIPO DE PARTO (normal)	
ANTECEDENTES MÉDICOS	
Patologías Relevantes	
Enfermedades Infecciosas	
Uso de Medicamentos	

Anexo 2: Ficha Clínica de la Madre e Hijo

FICHA CLINICA DE LA MADRE E HIJO							
ANÁLISIS DE GLUTAMATO EN LECHE MATERNA							
GRUPO 1: Mujeres primiparas adolescentes (10-19 años)							
Muestra 1 (POSTPARTO)	1 semana	Muestra 2 (1 mes)		Muestra 3 (4 meses)		Muestra 4 (6 meses)	
Caída de la leche							
FECHA (año-mes-día)		FECHA (año-mes-día)		FECHA (año-mes-día)		FECHA (año-mes-día)	
PESO (Kg)		PESO (Kg)		PESO (Kg)		PESO (Kg)	
ESTATURA (m)		ESTATURA (m)		ESTATURA (m)		ESTATURA (m)	
IMC (Kg/m ²)		IMC (Kg/m ²)		IMC (Kg/m ²)		IMC (Kg/m ²)	
CINTURA (diámetro cm)		CINTURA (diámetro cm)		CINTURA (diámetro cm)		CINTURA (diámetro cm)	
EXAMENES DE LABORATORIO						EXAMENES DE LABORATORIO	
Albúmina						Albúmina	
Colesterol						Colesterol	
HDL						HDL	
TG						TG	
Glucosa						Glucosa	
DATOS DEL HIJO		DATOS DEL HIJO		DATOS DEL HIJO		DATOS DEL HIJO	
Circunferencia de cabeza (cm)		Circunferencia de cabeza (cm)		Circunferencia de cabeza (cm)		Circunferencia de cabeza (cm)	
Peso (g)		Peso (g)		Peso (g)		Peso (g)	
Suplementación parcial fórmula		Suplementación parcial fórmula		Suplementación parcial fórmula		Suplementación parcial fórmula	
OBSERVACIONES:							

Anexo 3: Recordatorio 24 Horas

REGISTRO DEL RECORDATORIO DE 24 HORAS									
GRUPO:			1	2				Observaciones	
NUMERO DE INCLUSIÓN									
NOMBRE DE LA MADRE									
FECHA (año-mes-día)									
DÍA:									

INSTRUCCIONES:
En este cuestionario deberá registrar el consumo de alimentos de 3 días, dos días entre semana y un fin de semana.
No deberá cambiar su régimen actual de comidas.
Trate de anotar todo inmediatamente después de comer, aunque sea muy pequeña la comida anótela.
Debe indicar la forma de preparación de cada receta y los ingredientes utilizados.
Deberá indicar si la comida la realizó fuera de casa y el lugar donde la realizó por ejemplo Pizza Ch Farina.
Completar todas las columnas de la tabla.
La hora indicará desde su primera comida hasta la última.
Al describir el tipo de alimento debe ser muy específico en lo posible anotar la marca, por ejemplo leche entera "Poner la marca".
Indique la cantidad exacta de lo que comió por ejemplo si tiene un plato lleno de sopa en el almuerzo pero solo comió la mitad, entonces
registrará solamente lo que come. Si es un vaso de jugo grande, mediano, pequeño, si la fruta por ejemplo banano, grande, mediano,
pequeño, entero, la mitad. Si consumió alimentos empacados debe escribir la cantidad de comida que marca el paquete.
Debe describir en forma detallada la forma de preparación del alimento pro ejemplo café con leche: leche caliente con chocolate
en polvo, azúcar.
Si prepara los alimentos para más de una persona deberá anotar para cuántas personas la preparó, detallando el proceso culinario,
cantidades, ingredientes.

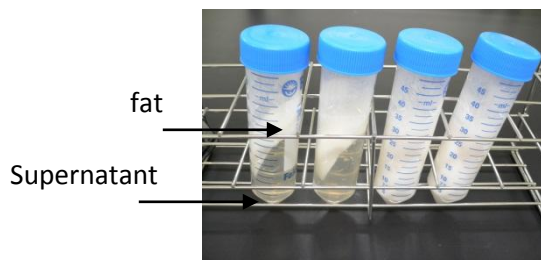
ANEXO 4: Protocolo para precipitar Proteínas de la Leche

Ajinomoto Co., Inc.

April 8, 2009

Protocol to precipitate milk proteins

1. Take a representative sample of breast milk (left & right breast. Let the baby to breast feed a little to facilitate sampling) mix well and pipette 20 mL into 50 mL Falcon tube. (on ice)
[In case of small volume, the smallest volume of milk should be 10 mL]
2. Add to the 20 mL of milk 10 mL of 6% 5-sulfosalicylic Acid Dihydrate (3-carboxy-4-hydroxybenzenesulfonic acid). * Use gloves and protective glasses and clothing since sulfosalicylic acid is corrosive.
Mix very well the milk and acid by vigorous vortex for at least 30 seconds
If there is no vortex it can be done by shaking vigorously the content of the falcon tube for 30 seconds
3. Centrifuge samples at 3000 rpm (1200 g) 15 min 4°C
4. After centrifugation, the fat phase will be at the top of the tube. Introduce carefully the tip of the pipette crossing the fat layer without disturbing the supernatant from the protein pellet of the bottom and take 5 mL two times very carefully into a 15 mL Falcon tube.
If there are many samples to process keep them on ice during manipulation, this will keep that fat solid at the top of the tube.



5. Then, add the 10 mL of the milk supernatant (clear of fat) into a 10 mL syringe. Filter the sample with a 0.45 μ m syringe filter. The dirtier is the supernatant the more difficult will be to filter. It is important not to push too hard the syringe because this may lose the filter and splash all the sample at ounce out of the syringe.
6. Freeze samples to -70°C until analysis.

Necessary materials

50 mL Falcon Tube

15 mL Falcon Tube

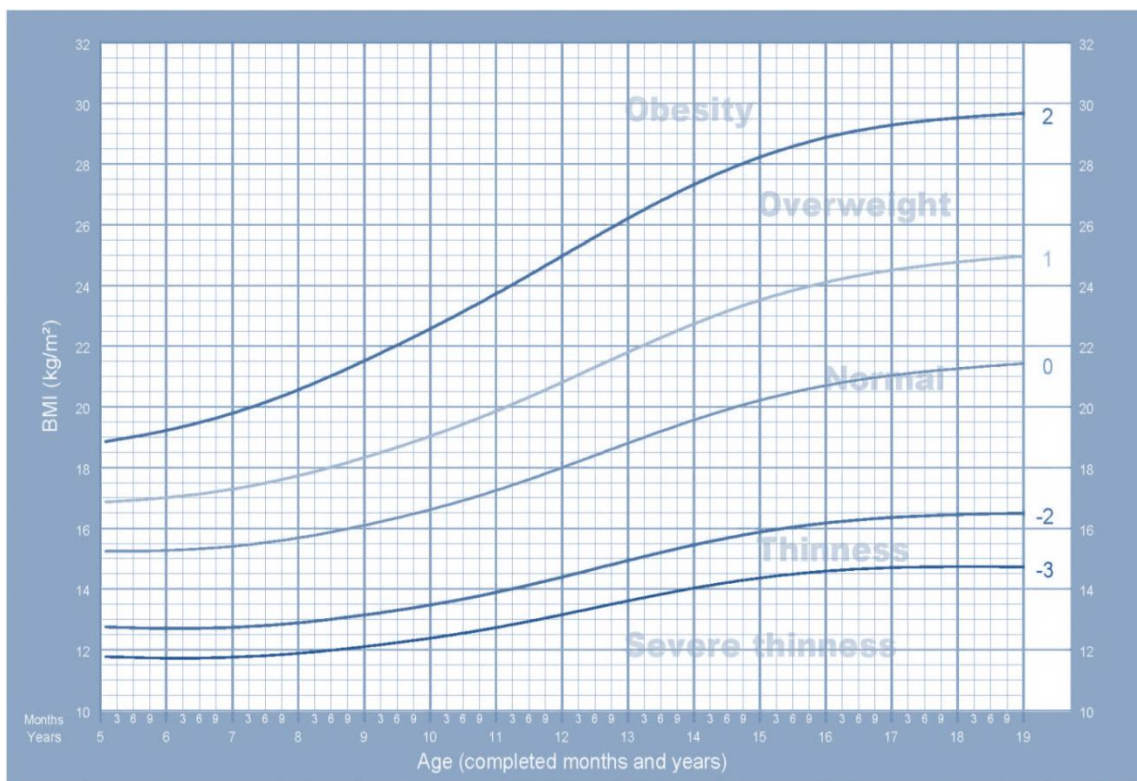
6% 5-sulfosalicylic Acid Dihydrate (prepare fresh every 2 months and keep in refrigerator; let it warm at room temperature before use)

5 mL pipette-man

45 μ m syringe filter (Whatman)

10 mL syringe

ANEXO 5: IMC para la edad (5 a 19 años) (Puntuación-Z)



Fuente: WHO,2007

FIGURAS ANTROPOMETRIA

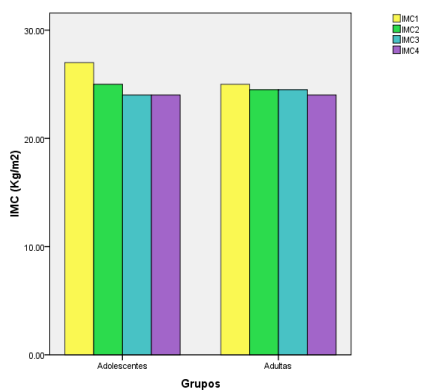


Figura 1.1 IMC Madres Adolescentes vs. Madres Adultas
No existen diferencias significativas entre grupos.

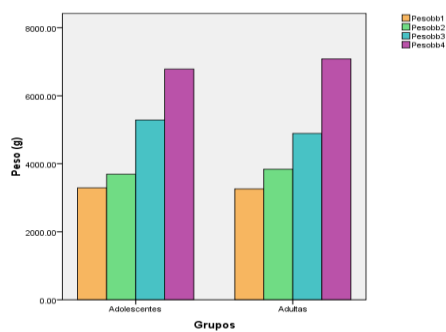


Figura 1.2 Peso de los bebés de madres adolescentes vs Peso Bebés de Madres Adultas
No existen diferencias significativas entre grupos.

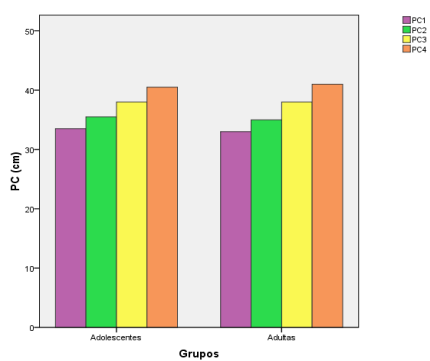


FIGURA 1.3 Perímetro Cefálico de los bebés de madres adolescentes vs Bebés de Madres Adultas
No existen diferencias significativas entre grupos.

QUIMICA SANGUINEA

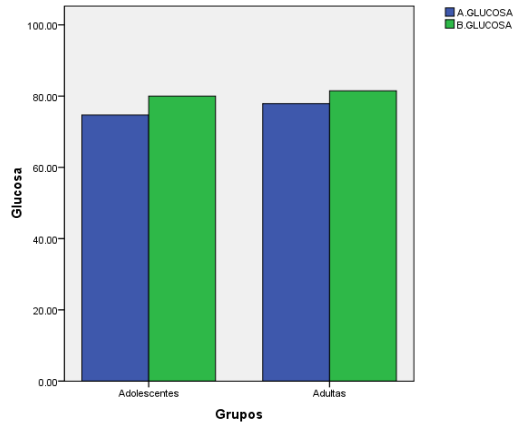


Figura 2.1 Glucosa sérica. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.
 Valor Referencial : 70-100 mg/dL
 No existen diferencias significativas entre grupos.
 No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

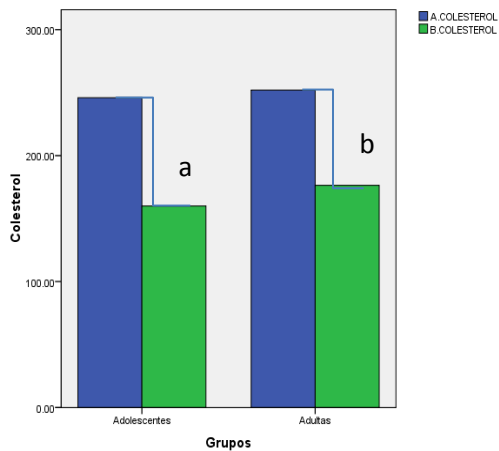


Figura 2.2 Colesterol Sérico. Barras azules: Inicio del estudio. Barras verdes: Final del estudio.
 Valor Referencial : 140-200 mg/dL
 (a) Diferencias Estadísticamente Significativas dentro del Grupo Adolescentes $P < 0.001$
 (b) Diferencias Estadísticamente Significativas dentro del Grupo Adultas $P < 0.002$
 a y b Prueba de Wilcoxon para muestras pareadas.

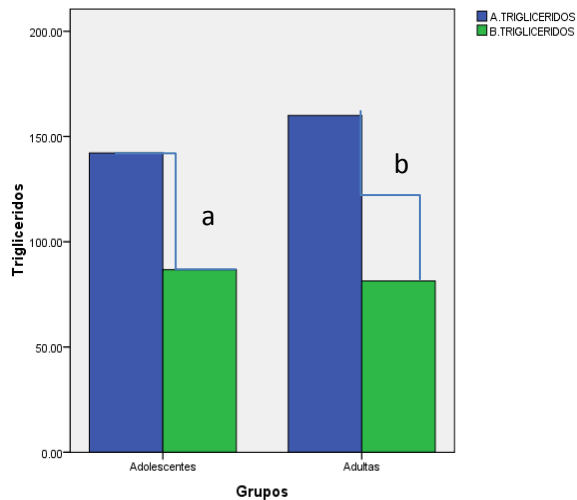


Figura 2.3 Triglicéridos Séricos. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.
 Valor referencial : 35-150 mg/dL
 a y b: Diferencias Estadísticamente Significativas dentro de ambos Grupos $P < 0.006$
 Prueba de Wilcoxon para muestras pareadas.

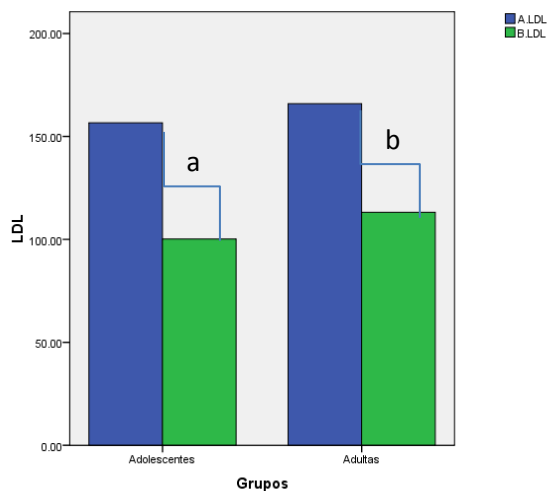


Figura 2.4 LDL sérico. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.
 Valor Referencial : 70-100 mg/dL
 (a) Diferencias Estadísticamente Significativas dentro del Grupo Adolescentes $P < 0.000$
 (b) Diferencias Estadísticamente Significativas dentro del Grupo Adultas $P < 0.007$
 a y b Prueba de Wilcoxon para muestras pareadas.

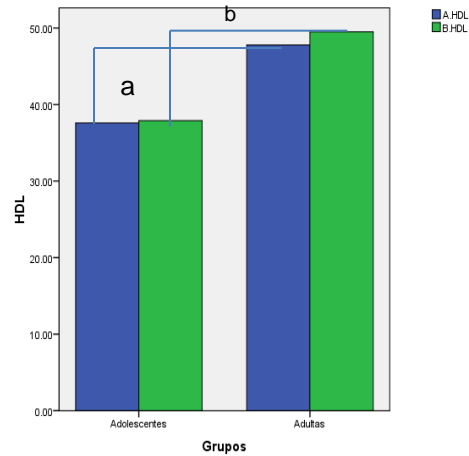


Figura 2.5 HDL sérico. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial : >40 mg/dL

(a) Diferencias Estadísticamente Significativas entre Adolescentes y Adultas $P < 0.04$ al inicio del estudio.

(b) Diferencias Estadísticamente Significativas Adolescentes y Adultas $P < 0.02$ al final del estudio.

a y b Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

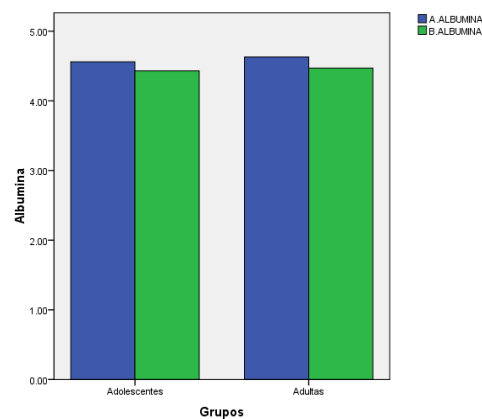


Figura 2.6 Albúmina Sérica. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial : 3.2-5.2 g/dL

No existen diferencias significativas entre grupos.

No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

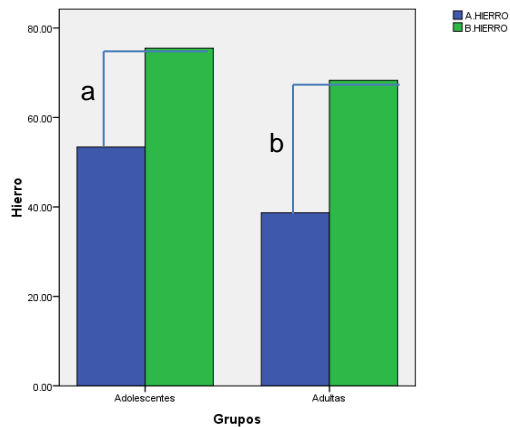


Figura 2.7 Hierro Sérico. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial : 29-163 $\mu\text{g/dL}$

No existen diferencias significativas entre grupos.

(a) Diferencias Estadísticamente Significativas dentro del Grupo Adolescentes $P < 0.03$

(b) Diferencias Estadísticamente Significativas dentro del Grupo Adultas $P < 0.005$

a y b Prueba de Wilcoxon para muestras pareadas.

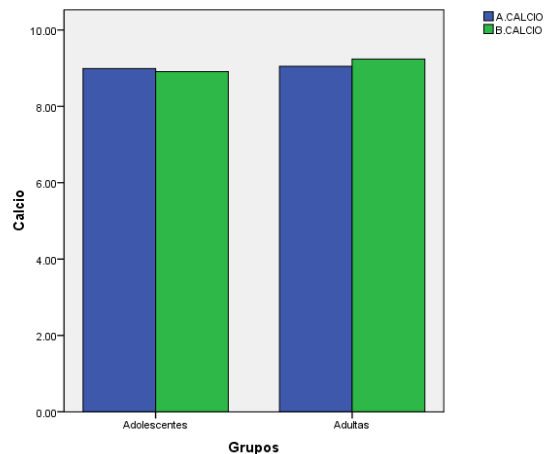


Figura 2.8 Calcio Sérico. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial : 8.3-10.5 mg/dL

No existen diferencias significativas entre grupos.

No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

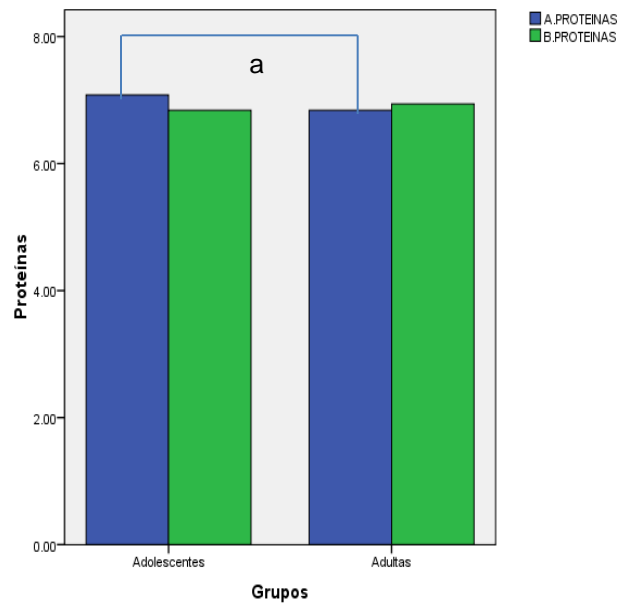


Figura 2.9 Proteína Sérica. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial : 5.5-8.7 g/dL

- (a) Diferencias Estadísticamente Significativas entre Adolescentes y Adultas $P < 0.03$ al inicio del estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

CONSUMO DE NUTRIENTES

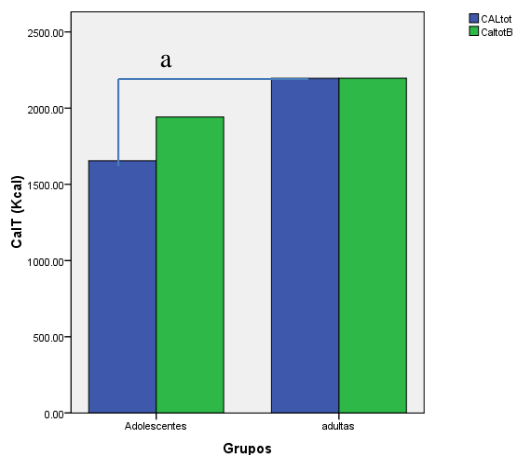


Figura 3.1 Calorías Totales. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: Adolescentes: 2698 Kcal/d

Adultas: 2733 Kcal/d

(a) Diferencias Estadísticamente Significativas entre Adolescentes y Adultas $P < 0.05$ al inicio del estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

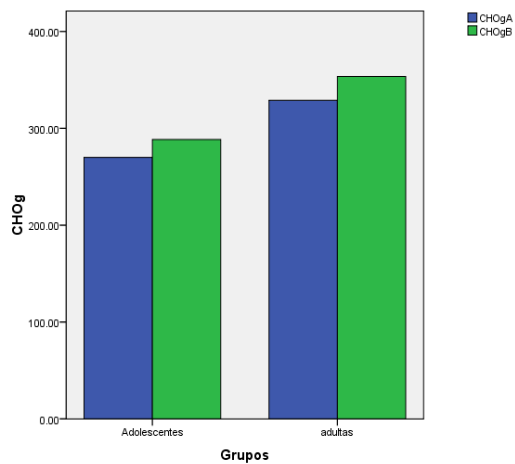


Figura 3.2 Carbohidratos. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: 210 g/d

No existen diferencias significativas entre grupos.

No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

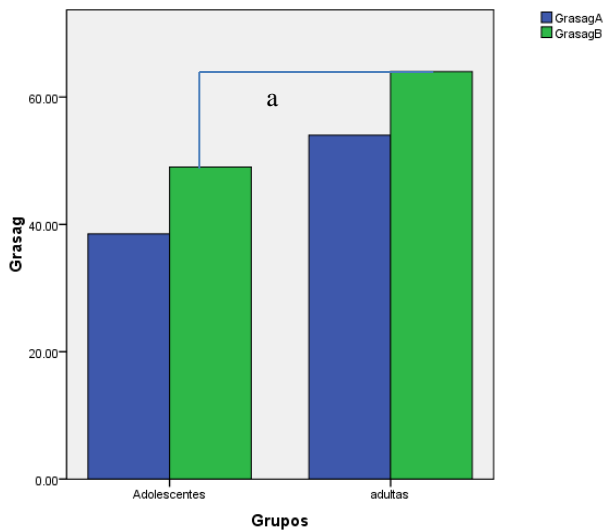


Figura 3.3 Grasa. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: 20-35 g/d

(a) Diferencias Estadísticamente Significativas entre Adolescentes y Adultas $P < 0.04$ al final del estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes

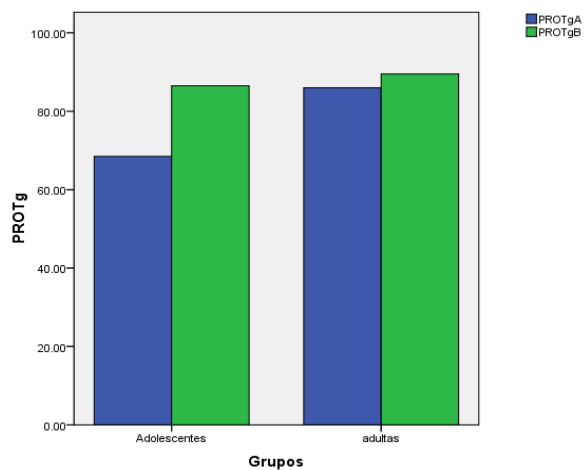


Figura 3.4 Proteínas. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: 1.3 g/Kg/d

No existen diferencias significativas entre grupos.

No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos

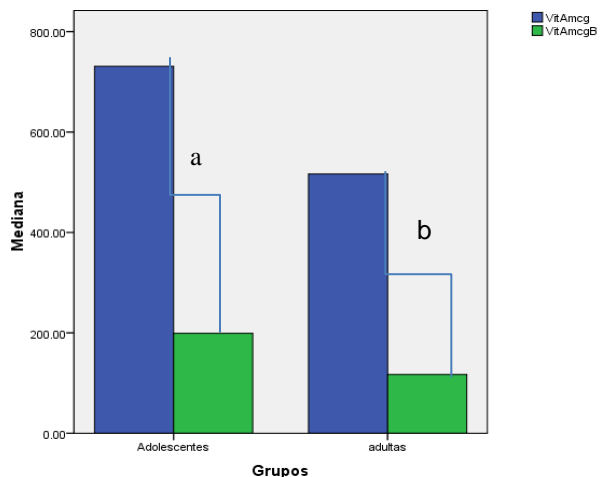


Figura 3.5 Vitamina A. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: 1300 mcg/d

No existen diferencias significativas entre grupos.

(a) Diferencias Estadísticamente Significativas dentro del Grupo Adolescentes $P < 0.006$. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

(b) No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos

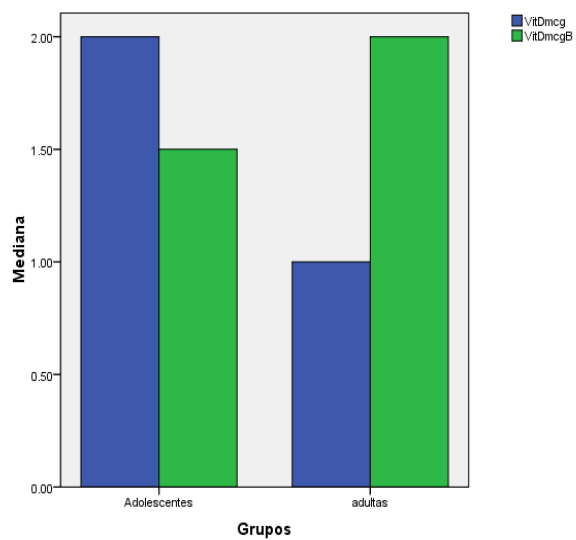


Figura 3.6 Vitamina D. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: 5 mcg/d

No existen diferencias significativas entre grupos.

No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

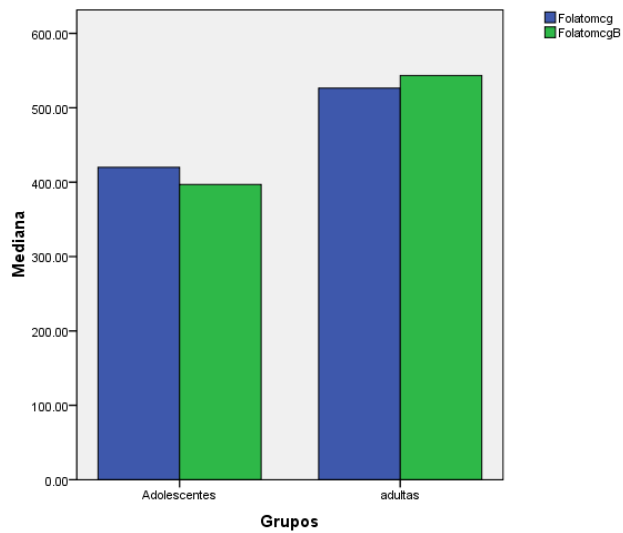


Figura 3.7 Vitamina B12. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.
 Valor Referencial para madres lactantes: 500 mcg/d
 No existen diferencias significativas entre grupos.
 No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

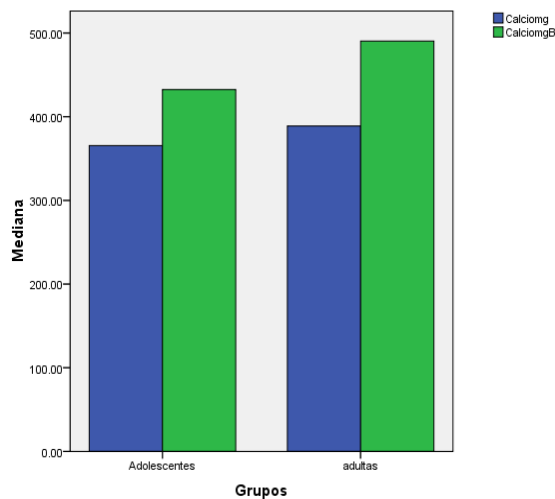


Figura 3.8 Calcio. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.
 Valor Referencial para madres lactantes: Adolescentes: 1000 mg/d
 Adultas: 1300 mg/d
 No existen diferencias significativas entre grupos.
 No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

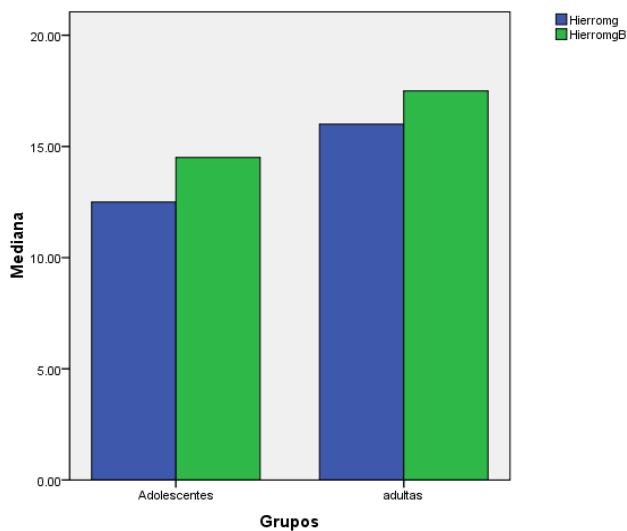


Figura 3.9 Hierro. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: 14.8 mg/d

No existen diferencias significativas entre grupos.

No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

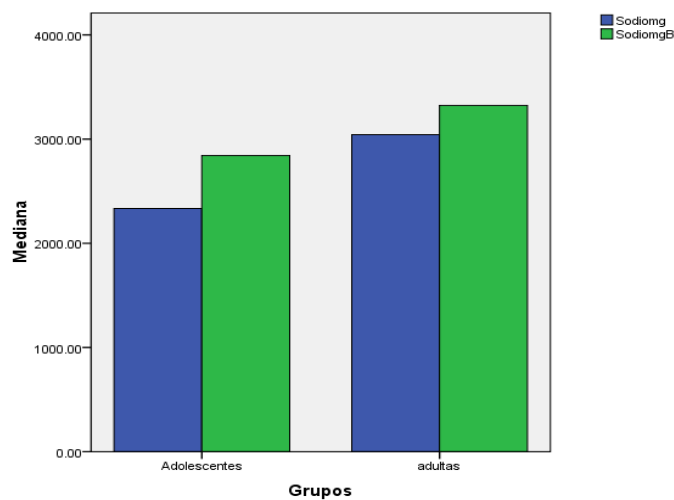


Figura 3.10 Sodio. Barras azules. Inicio del estudio. Barras verdes: final del estudio.

Valor Referencial para madres lactantes: 1500 mg/d

No existen diferencias significativas entre grupos.

No existen diferencias significativas dentro de ambos grupos.

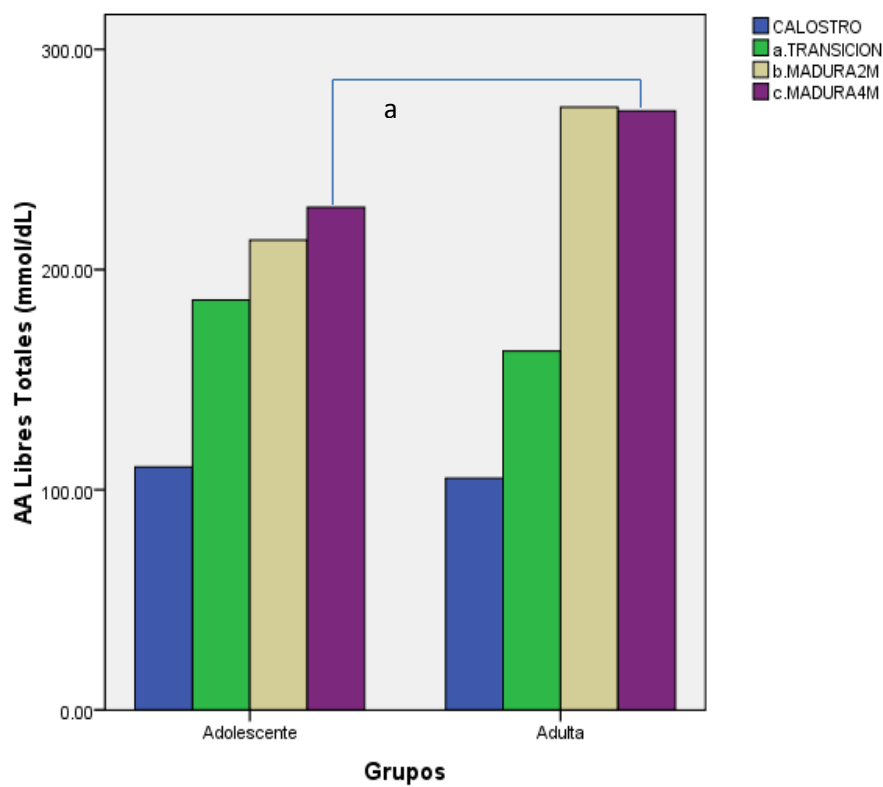
AMINOACIDOS LIBRES EN LA LECHE MATERNA

Figura 4.1 AA libresTotales. Diferencias Estadísticamente Significativas entre Grupo Adolescentes y Adultas $P < 0.04$ a los 4 meses de estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

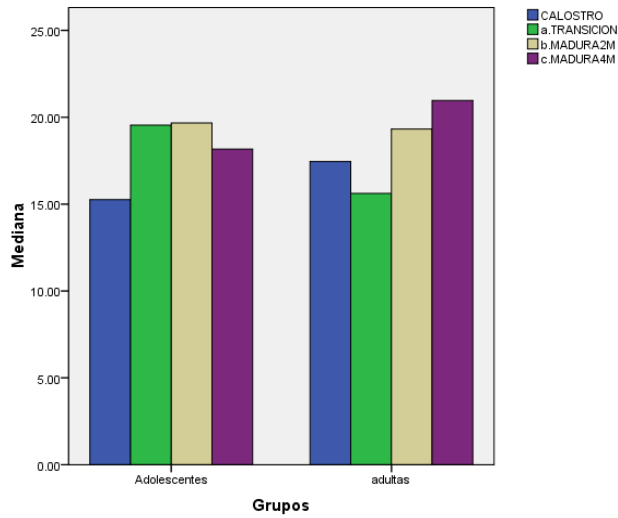


Figura 4.2 AA libres Esenciales. No existen diferencias significativas entre grupos.

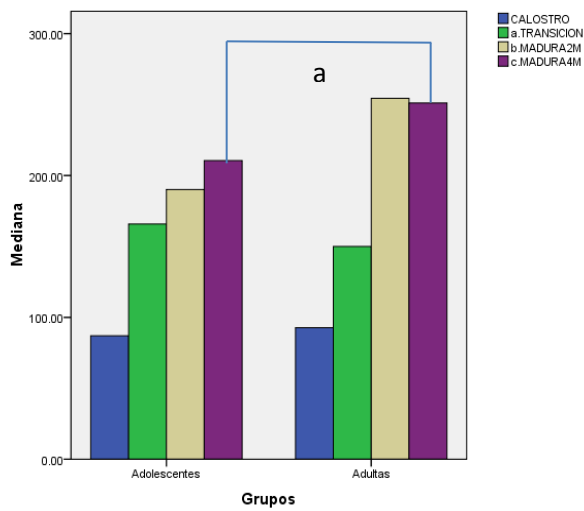


Figura 4.3 AA No esenciales. Diferencias Estadísticamente Significativas entre Grupo Adolescentes y Adultas $P < 0.05$ a los 4 meses de estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

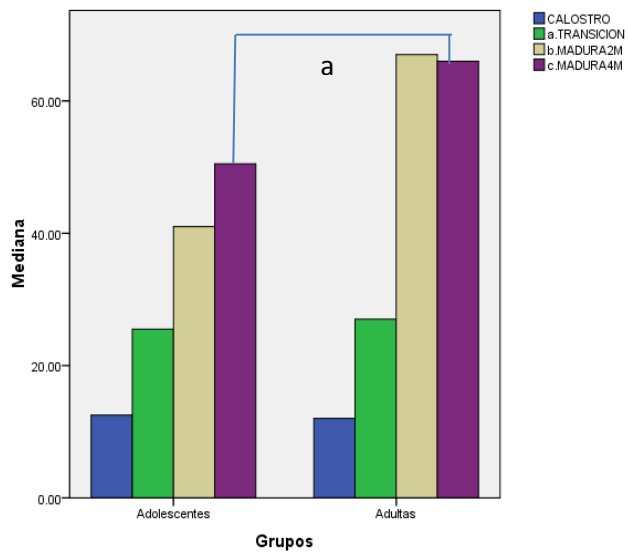


Figura 4.4 AA libre Glutamina. (a) Diferencias Estadísticamente Significativas entre Grupo Adolescentes y Adultas $P < 0.003$ a los 4 meses de estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

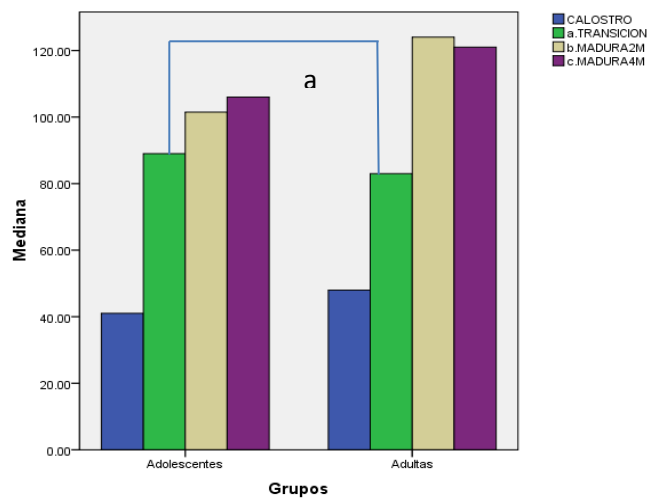


Figura 4.5 AA Libre Glutamato. (a) Diferencias Estadísticamente Significativas entre Grupo Adolescentes y Adultas $P < 0.05$ a los 15 días de estudio. (Período de Transición). Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes.

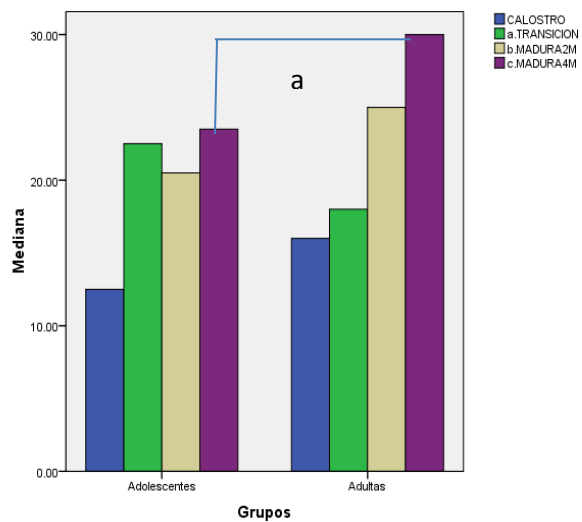


Figura 4.6 AA libre Alanina . (a)Diferencias Estadísticamente Significativas entre Grupo Adolescentes y Adultas $P < 0.05$ a los 4 meses de estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes

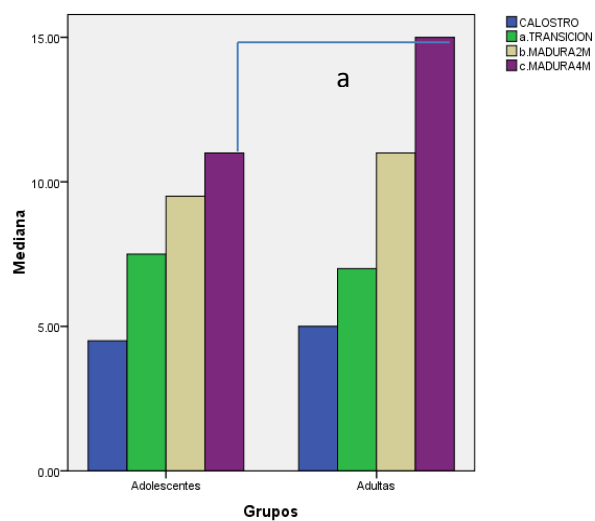


Figura 4.7 AA libre Serina. (a) Diferencias Estadísticamente Significativas entre Grupo Adolescentes y Adultas $P < 0.03$ a los 4 meses de estudio. Prueba de Mann Whitney-U para muestras independientes

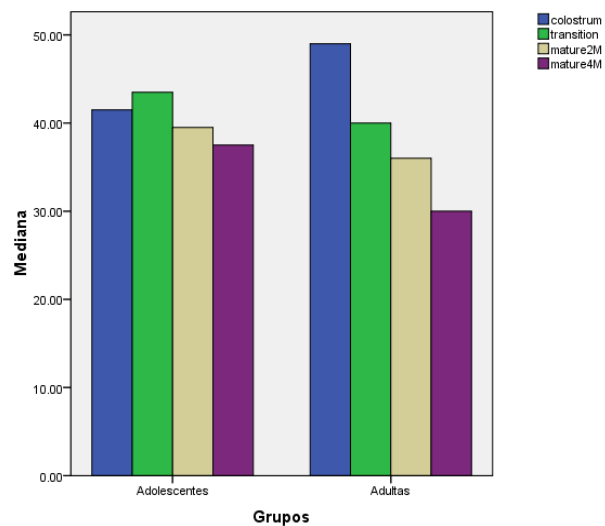


Figura 4.8 AA libre Taurina. No existen diferencias significativas entre grupos.

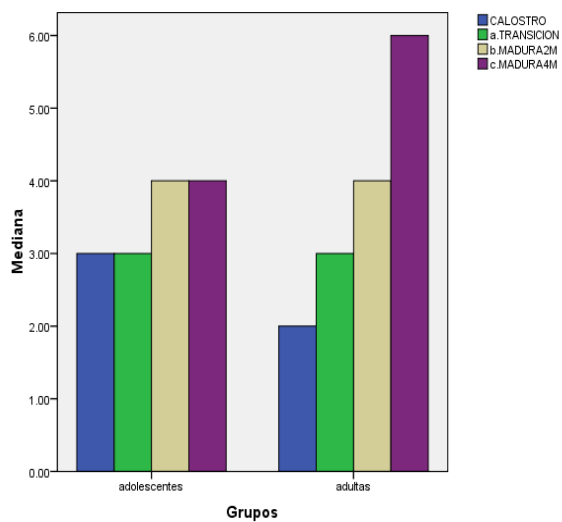


Figura 4.9 AA libre Aspartato. No existen diferencias significativas entre grupos.