



MINISTERIO
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD

SECRETARÍA
DE ESTADO DE SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD

INSTITUTO DE LA MUJER
Y PARA LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES



UNIÓN EUROPEA
FONDO SOCIAL EUROPEO
El FSE invierte en tu futuro

Estudios e Investigaciones

INFLUENCIA DEL CONSUMO DE OMEGA 3, PROCEDENTES DEL PESCADO, DURANTE LA LACTANCIA, EN COMPONENTES DE LA LECHE MATERNA RELACIONADOS CON EL PADECIMIENTO DE ALERGIA

Año 2011-2014

Equipo investigador dirigido por: Nieves Marta Díaz Gómez

- Covadonga Rodríguez González
- Virginia Martín Martín
- M^a Inmaculada González Pérez
- Flora Barroso Guerrero
- Eduardo Domenech Martínez
- Antonio Lorenzo Hernández
- Mercedes Murray Hurtado
- Sara Garcia Ravelo
- Diana Escuder Vieco
- Débora Riverol Martín
- Roberto Dorta-Guerra

Universidad de la Laguna-Sta. Cruz de Tenerife

NIPO: 685-15-017-X

Exp196/11

MEMORIA FINAL DE INVESTIGACION

Proyecto subvencionado por el instituto de la mujer. Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad.



UNIÓN EUROPEA
FONDO SOCIAL EUROPEO
El FSE invierte en tu futuro

A. DATOS DE IDENTIFICACIÓN:

1. **Título:** Influencia del consumo de omega-3, procedentes del pescado, durante la lactancia, en componentes de la leche materna relacionados con el padecimiento de alergia.
2. **INVESTIGADOR/A RESPONSABLE:** **Nieves Marta Díaz Gómez.**
NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN A LA QUE PERTENECE: **Universidad de La Laguna**
3. **Colaboradores:**
 - Covadonga Rodríguez González
 - Virginia Martín Martín
 - M^a Inmaculada González Pérez
 - Flora Barroso Guerrero
 - Eduardo Domenech Martínez
 - Antonio Lorenzo Hernández
 - Mercedes Murray Hurtado
 - Sara Garcia Ravelo
 - Diana Escuder Vieco
 - Débora Riverol Martín
 - Roberto Dorta-Guerra
4. **Fecha de realización:** (inicio: enero 2012, finalización: abril 2014)
5. **Área temática:** Salud

INTRODUCCION

A lo largo del siglo XX el entorno de la maternidad ha sufrido cambios significativos. La incorporación de la mujer al mundo laboral asalariado, la escolarización de las niñas, la igualdad de derechos civiles para la mujer y la posibilidad de utilizar medidas anticonceptivas de forma generalizada trajeron consigo una disminución de la natalidad, que ha cambiado de tendencia en los últimos años. Actualmente la mayoría de las mujeres que dan a luz en nuestro país, trabajan fuera de casa, están en torno a los 30 años y este primer hijo que acaba de nacer, es fruto de una decisión consciente y compartida con su pareja. Son mujeres maduras, bien informadas y que desean participar activamente en todas las decisiones que tengan que ver con su salud y la de su hijo.

La maternidad difiere de la paternidad en el exclusivo privilegio de alimentar y albergar al feto durante 9 meses y la posibilidad de seguir alimentando al bebé al pecho durante un periodo prolongado de tiempo, por ello la lactancia materna se debe considerar como una parte integrante del proceso de maternidad, parto y crianza del hijo.

Las decisiones de las mujeres sobre cómo cuidarse a sí mismas durante el ciclo reproductivo no solamente van a repercutir en su salud sino que también influirán de forma importante en la salud de sus hijos. Entre los factores individuales que regulan estas decisiones se incluyen las prioridades que establece la mujer en cuanto a cuidados de salud, entre los que ocupan un lugar destacado el ejercicio físico y la alimentación, como factores determinantes. Respecto a este último aspecto, durante los últimos cincuenta años, se ha podido establecer claramente la asociación entre la correcta nutrición de la madre y la prevención de muchas enfermedades: obesidad, enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial, caries dental, diabetes mellitus, osteoporosis, cáncer, entre otras (Carrilo y cols. 2011)

Una dieta sana y equilibrada requiere gran variedad de alimentos entre los que debe estar presente el pescado, por sus propiedades nutricionales. El pescado constituye una fuente de proteínas de excelente calidad, aporta minerales y vitaminas y además presenta un perfil de lípidos único y más saludable que el de otros alimentos proteicos, como las carnes, ya que contiene ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA), en cantidades elevadas (entre un 25%-45% de los ácidos grasos totales). Entre ellos se encuentran los ácidos EPA (eicosapentanoico) y DHA (docosahexanoico), de la familia omega-3. Estos últimos, los ácidos grasos omega-3, desempeñan funciones muy importantes en el embarazo y la lactancia, ya que formarán parte de las membranas celulares, del sistema nervioso y de la retina del bebé. Es tal la demanda de omega-3, que, en la mujer embarazada, deben suponer hasta un 2% de la energía total de la dieta, el doble que en situación de no embarazo. La cantidad recomendable para obtener dichos beneficios sería de entre 2 y 3 gramos semanales de ácidos grasos omega-3. Eso corresponde a tomar pescado azul de una a tres veces a la semana. Durante el periodo de lactancia el aporte adecuado de ácidos grasos poliinsaturados se realiza a través de la leche materna (Gil-Campos y cols. 2010)

Componentes lipídicos y bioactivos de la leche humana

La leche materna es un líquido biológico con una gran disponibilidad de nutrientes, bajo contenido antigénico y numerosos componentes bioactivos cuya importancia se ha dado a conocer en las últimas décadas. Contiene una mezcla compleja de componentes (Field C et al. 2005) que se estructura en tres subsistemas o fases principales: fracción suspensión (que contiene caseínas, calcio y fósforo), la fracción emulsión (que contiene componentes liposolubles incluyendo vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) ω 3 y ω 6, y la fracción solución (constituida por agua y sustancias hidrosolubles: algunas vitaminas, minerales, carbohidratos, proteínas, enzimas y hormonas). Es en esta última fracción en la que se encuentra la mayor parte de los componentes bioactivos.

Ácidos grasos.

Entre los ácidos grasos presentes en la fracción emulsión de la leche humana, cabe destacar los ω 3: ácido eicosapentanoico (20:5n-3, EPA) y ácido docosahexaenoico (22:6n-3, DHA), con función inmunomoduladora y el ω 6, ácido araquidónico (20:4n-6, AA). Específicamente el DHA juega un importante papel en las membranas del tejido neural (cerebro y retina) en las cuales alcanza altas

concentraciones. Recientemente se ha demostrado que los ácidos grasos omega-3 también tienen importantes efectos en la regulación de la expresión génica y actúan como mediadores en otros procesos incluyendo la neuroprotección, actividades absolutamente desconocidas décadas atrás para estos nutrientes (Piomelli et al., 2007).

Los omega-3 desempeñan funciones muy importantes durante la gestación y lactancia. Se ha demostrado que prolongan la gestación (Smuts et al, 2003), reducen hasta 2,6 veces el riesgo de hipertensión asociado al embarazo (Blümer et al, 2007) y de depresión postparto (Borja-Hart y Marino, 2010), reduce la incidencia de partos prematuros y de bajo peso al nacimiento (Olsen y Secher, 2002), mejoran el desarrollo de la agudeza visual, y habilidades cognitivas del lactante (Carlson, 2009), favorecen el desarrollo del sistema inmune y disminuyen el riesgo de enfermedades alérgicas (Blümer y Renz, 2007).

Los requerimientos de estos ácidos grasos se incrementan durante la etapa prenatal y los primeros años de vida, al ser periodos de rápido crecimiento y desarrollo celular. De ahí la importancia de incluir omega-3 en la dieta de la madre, especialmente durante el tercer trimestre de la gestación y durante la lactancia (<http://ullmedia.udv.ull.es/video/68>). Los niveles de omega-3 en sangre de cordón y en leche materna han sido relacionados con la ingesta de omega-3 de la madre (Weseler et al., 2008). Las recomendación de ingesta diaria para mujeres en edad reproductiva se ha establecido en un mínimo de 200mg/día de DHA (1.4 gr a la semana). Dado que el pescado constituye la principal fuente natural de ácidos grasos omega-3 de cadena larga, especialmente el pescado azul: salmón, sardina, atún y caballa (entre 1 y 2 gr por 100 gr.), para alcanzar la ingesta recomendada de DHA, se recomienda consumir una amplia variedad de pescados, incluyendo pescado azul, unas 2 veces por semana (Koletzko et al. 2007).

Eicosanoides

El EPA, junto con el AA, actúan como precursores en la formación de eicosanoides: prostaglandinas (PG), tromboxanos y leucotrienos(LT), por lo que en teoría, una baja ingesta de pescado podría alterar la composición de ácidos grasos de la leche materna, con la consecuente alteración en la producción de eicosanoides.

Los eicosanoides son moléculas que actúan como hormonas autocrinas y regulan numerosos procesos fisiológicos, entre los que se incluyen la respuesta inmune e inflamatoria (Klemens et al., 2011). La PGE2 promueve la síntesis de IgE, mientras que el LTB4 favorece la expresión de varias citoquinas proinflamatorias como FNT-alfa, IL-1, IL-6 e IL-2. Los eicosanoides también inhiben la activación de señales celulares proinflamatorias, como la cascada de transducción de la señal de NF- κ B y la proliferación de linfocitos y de células NK (Blumer y Renz, 2007)

En general, estos eicosanoides están implicados en el mantenimiento de reacciones alérgicas y en la inducción de broncoconstricción en pacientes asmáticos. Específicamente, los leucotrienos (LT) actúan aumentando la permeabilidad vascular, y median en la hiperreactividad bronquial. Se ha comprobado que los niveles séricos de LTE4 se incrementan en niños y adultos con asma, en comparación con los controles sanos (Green et al., 2004).

Los eicosanoides, especialmente la prostaglandina PGE2, se han medido en la leche materna (Reid et al., 1980; Neu et al., 1988), pero no hay estudios que comparen estos niveles entre madres alérgicas y no alérgicas.

Citoquinas.

Otros de los constituyentes de la leche humana con propiedades inmunológicas son las citoquinas antiinflamatorias como IL-10 o TGF- β , o proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α , entre otras. En el neonato existe una escasa producción de citoquinas, lo cual puede ser compensado gracias a su aporte a partir de la leche materna (Field 2005; Garofalo 2010).

El término genérico citoquinas engloba diversos tipos de glicoproteínas de bajo peso molecular: quimiocinas (con propiedades quimiotácticas), interleukinas (que se secretan por leucocitos y actúan sobre otros leucocitos), interferones (inducidos en respuesta a infección viral), factores estimulantes de

colonias (que regulan la proliferación y diferenciación celular en la hematopoyesis), factores de crecimiento, etc. Las citoquinas son secretadas por células inmunocompetentes y actúan como mediadores y coordinadores en la respuesta inmune, tanto de forma autocrina como paracrina o endocrina, a través de receptores de superficie de alta afinidad (Mc Innes 2010).

Existe escasa correlación entre la concentración de diferentes citoquinas en muestras de leche materna y suero de las mismas mujeres, e incluso algunas de ellas muestran niveles más altos en leche que en sangre, con lo que se puede concluir que gran parte de las citoquinas se producen localmente en la glándula mamaria, si bien algunos estudios han demostrado que los leucocitos contenidos en la leche materna también son capaces de producir algunas citoquinas posteriormente (Böttcher et al. 2000).

Las principales citoquinas identificadas en leche materna son: la IL-1 (presente en forma de IL-1 β), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IFN-GAMMA, TNF-ALFA, TNF-BETA, sCD14 y RANTES (Böttcher et al. 2000 y 2003)

La IL-2 se produce en escasa cantidad por el recién nacido, por lo que se postula que su presencia en leche materna puede tener gran importancia, dado su papel crucial en el sistema inmune, promoviendo la proliferación de células T y NK, actuando en la diferenciación. La TGF-BETA es una de las citoquinas clave, junto con la IL-10, para mantener la homeostasis en el intestino, creando un medio apropiado para el procesamiento de los antígenos, promoviendo así la tolerancia oral en el lactante, por lo que podría estar involucrada en la prevención de la alergia. Se trata de una citoquina inmunorreguladora que actúa sobre linfocitos T y B, células NK, dendríticas y macrófagos (Lönnerdal B 2010), y participa en la activación de la síntesis de IgA (Böttcher et al. 2000). Existen 5 isoformas, de las cuales la tipo 2 es la mayoritaria en leche humana (Penttila 2010). Sus elevadas concentraciones en leche materna podrían explicar la capacidad antiinflamatoria atribuida a la misma, en la que se encuentra en forma latente, activándose en medio ácido, como podría ocurrir en el estómago del lactante (Laiho et al 2003).

La concentración de cada citoquina en la leche humana varía en función de factores como el tipo de leche (calostro, transición o leche madura) o la edad gestacional (Moltó-Puigmartí et al. 2011), existiendo mayores niveles cuando el lactante presenta un sistema inmune más inmaduro (primeros días de vida y prematuros). Algunos estudios han demostrado la influencia de otros factores como la alimentación de la madre (Dunstan et al 2004) o el ejercicio (Gröer et al 2009). En relación al procesamiento de la leche, se ha comprobado que la congelación o el centrifugado de la muestra no alteran la concentración de las citoquinas que contiene ni dificulta su determinación (Böttcher et al. 2003).

Lactancia materna y alergia en el lactante

En las últimas décadas se ha demostrado un aumento progresivo en la prevalencia de enfermedades alérgicas, sobre todo en países industrializados (Okada et al 2010), y este aumento es de tal envergadura, que se habla actualmente de un fenómeno epidémico.

Se conoce que el estado de atopia parental, y en particular de la madre, predispone al padecimiento de enfermedades englobadas dentro del espectro de la atopia en su descendencia (asma, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica, dermatitis o eccema atópico (Laiho et al 2003). El riesgo de padecer alergia mediada por IgE es de un 40-60% si ambos padres son atópicos, mientras que este porcentaje disminuye a un 5-10% si ninguno lo es. Junto con los factores genéticos, los factores ambientales también juegan un papel importante en la expresión de las manifestaciones alérgicas. Entre los posibles factores de riesgo se incluye la ingesta de ciertos alimentos por la madre durante el embarazo y lactancia, o por el bebé en sus primeros meses de vida.

La leche materna se considera el alimento ideal para el lactante por su composición adaptada de manera dinámica a las necesidades nutritivas del mismo, su fácil digestión y absorción, escasa carga osmolar, condiciones higiénicas y de temperatura idóneas, nulo coste y beneficios para la salud de la madre e hijo a corto y largo plazo (Díaz-Gómez 2006), entre los que se incluye su posible efecto protector frente al padecimiento de alergia (Laiho et al 2003; Van Odijk et al 2003).

Aunque los resultados de algunos estudios arrojan resultados discordantes, no encuentran relación o incluso en algunos parece existir más bien un mayor riesgo de alergia entre los amamantados (Friedman et al 2005), la mayoría demuestran que la lactancia materna exclusiva en el lactante con antecedentes familiares de atopia, y en menor medida para la población general, ejerce un papel protector frente a la dermatitis atópica, asma y rinitis alérgica. Por todo ello las principales sociedades científicas relacionadas con el tema (American Academy of Pediatrics, European Society for Paediatric Allergy and Clinical Immunology, European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) recomiendan firmemente la lactancia materna en caso de antecedentes de alergia en familiares directos, y especialmente si la historia de alergia proviene de la rama materna.

Continúa sin conocerse bien el mecanismo por el que la leche materna ejerce este efecto protector frente a la alergia. Se postulan diferentes hipótesis: la menor exposición a antígenos externos en lactantes alimentados al pecho, con el consiguiente menor riesgo de sensibilización (si bien este punto está controvertido tras comprobarse el paso de alérgenos a través de la leche materna), la protección frente a infecciones que podrían suponer un estímulo para el desarrollo de atopia, y la influencia de la leche materna en la maduración gastrointestinal del bebé, sobre todo a nivel de la barrera mucosa y de la flora gastrointestinal y la influencia de factores inmunomoduladores presentes en la leche materna. En este sentido, varios autores han estudiado la concentración de diversas citoquinas en la leche de mujeres con alergia y mujeres sanas, con la finalidad de determinar si la presencia de atopia en la madre puede influir en la composición de su leche, arrojando resultados dispares (Laiho et al 2003, Böttcher et al. 2003, Snijders et al 2006, Dunstan et al 2004, 57).

Es importante desarrollar trabajos de investigación que puedan contribuir al avance en los conocimientos existentes acerca de los factores que pueden actuar como protectores frente a la alergia, una patología de elevada prevalencia en la mujer en edad reproductiva y en sus hijos. Tiene especial interés el papel que pueden desempeñar los ácidos grasos omega-3 presentes en la leche materna, en la concentración de algunos agentes bioactivos con efecto inmunomodulador, contenidos en la leche materna y la mayor o menor prevalencia e intensidad de síntomas de alergia, aspecto que hasta donde tenemos constancia, no ha sido aún suficientemente estudiado.

OBJETIVOS

Determinar si el perfil de ácidos grasos omega-3 de la leche materna guarda relación con:

El consumo de pescado como fuente de ácidos grasos omega-3.

La concentración de citoquinas en la leche materna.

La concentración de prostaglandinas y leucotrienos en la leche materna.

La presencia de manifestaciones alérgicas en la madre y en su descendencia.

HIPÓTESIS DE TRABAJO:

Se postula que el perfil de ácidos grasos omega-3 de la leche materna, se relaciona con la ingesta de omega-3 y puede influir en los niveles de citoquinas, prostaglandinas y leucotrienos presentes en la leche materna madura y guardar relación con el padecimiento de enfermedades alérgicas en las madres y en su descendencia.

METODOLOGIA

Tamaño de la muestra

La mayoría de los estudios previos sobre el contenido en citoquinas en leche materna se han basado en muestras que oscilan entre los 20 y los 130 sujetos. En nuestro estudio, el tamaño muestral, con carácter exploratorio, se ha establecido en 140 sujetos. Para compensar las posibles pérdidas en el seguimiento se ha ampliado la muestra en un 10% más, fijándose en a 154 sujetos.

Diseño

Estudio de cohortes.

Sujetos: Madres de recién nacidos a término con más de dos semanas de lactancia.

Se excluyeron del estudio a todas las madres de recién nacidos prematuros, que estén en fases iniciales de la lactancia (≤ 2 semanas) o padezcan una enfermedad crónica distinta de la alergia, así como aquellas que hayan rellenado de manera incompleta el cuestionario.

Procedimiento: A las participantes se les informó verbalmente y por escrito de los objetivos del estudio, y se les solicitó mediante consentimiento informado su participación libre y voluntaria, que consistió en la donación de una muestra de leche, extraída en las condiciones abajo descritas. Además cumplimentaron un cuestionario, mediante el cual se valoró la condición de alérgicas o no alérgicas de las donantes y de sus hijos, así como sus hábitos de consumo (ingesta de pescado). El cuestionario ha sido elaborado en base a encuestas validadas utilizadas en estudios previos como el ISAAC o el ECRHS (53-64).

Variables del estudio

a) Variables independiente principal:

Perfil de ácidos grasos - omega-3 en leche materna

b) Variables dependientes:

- Concentración de las siguientes citoquinas en leche materna: IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-5, IL- 9, IL-10, IL-12, IL-13, TGFb1, TNFa, IFNg y RANTES.
- Concentración de eicosanoides: prostaglandina PGE2 y leucotrieno LTE4 en leche materna:
- Presencia en las madres de alergia, con signos y/o síntomas sugestivos de asma, eccema atópico, rinoconjuntivitis alérgica o alergia alimentaria.
- Presencia de alergia en el lactante, con signos y/o síntomas sugestivos de asma, eccema atópico, rinoconjuntivitis alérgica o alergia alimentaria.

Análisis de citoquinas en las muestras de leche humana

La determinación de las diferentes citoquinas se realizó mediante una técnica combinada de inmunoensayo y citometría de flujo denominada Cytometric Bead Array (CBA) en el citómetro de flujo FACS Calibur (Becton Dickinson) mediante el software FCAP Array, de soft Flow Hungary Ltd. para la valoración de los datos adquiridos, de acuerdo con las instrucciones de la técnica (Castellote C. et al., 2010, Holmlund U. et al., 2010)

Los BD CBA son métodos analíticos que permiten el análisis de distintos analitos en una misma muestra. Una vez adquiridas las muestras y los calibradores, se importan los datos en el software FCAP Array que construye las graficas de calibración (ver figura) y sobre éstas determinarán las concentraciones de las muestras.

El CBA ofrece varias ventajas en comparación con ELISA convencional, tales como:

- El volumen de muestra requerido es aproximadamente un quinto de la cantidad necesaria para los ensayos de ELISA convencionales debido a la detección de varios analitos en una sola muestra.
- Un solo conjunto de patrones diluidos se utiliza para generar una curva estándar para cada analito.
- Un experimento CBA toma menos tiempo y diluciones que un solo ELISA, y proporciona resultados que normalmente se requieren cinco pruebas ELISA convencionales con un mayor rango de medición.

Análisis de eicosanoides: prostaglandinas y leucotrienos, en las muestras de leche materna.

En las muestras de leche materna se midió el contenido en prostaglandina E2 y cisteinil leucotrieno (CysLT) que incluye LTC4, LTD4, LTE4, leucotrienos más relacionados con la alteración de la actividad celular asociada con el proceso inflamatorio (asma, rinitis alérgica y enfermedades concomitantes)

Para la medida de la prostaglandina E2 se empleó el kit Prostaglandin E Metabolite EIA Kit, realizando una purificación previa de la muestra empleando el protocolo de precipitación con acetona, recomendado para eliminar las proteínas de muestras heterogéneas.

Para la medida del cisteinil leucotrieno E4 se empleó el kit Cysteinyl leukotriene EIA kit REF. 500390 de Cayman.

Análisis estadístico

Los datos cuantitativos fueron analizados usando el paquete estadístico SPSS Statistics 20 (Chicago, ILL). Para determinar la bondad de ajuste de los datos numéricos a una distribución normal, se utilizó el Test de Normalidad de Kolmogorov-Smirnoff para una muestra y el test de Levene para comprobar la homogeneidad de las varianzas (homocedasticidad).

Las diferencias entre grupos fueron detectadas utilizando el test de la t-Student para comparación de medias, cuando se cumplía la normalidad, o mediante el test no paramétrico U de Mann Whitney cuando no había normalidad.

Se consideraron significativos los valores de probabilidad menores a 0,05.

RESULTADOS y DISCUSION

Características de la muestra

Del total de madres que participaron en el estudio, 67 fueron clasificadas como alérgicas y 87 como no alérgicas. En el grupo de las alérgicas el diagnóstico más frecuente fué el de rinitis/conjuntivitis alérgica (73,1%), seguido del de dermatitis atópica (41,8%), siendo menor la proporción de madres con asma (28,3% del total de madres alérgicas) y con alergia alimentaria (23,9%)

En cuanto a los lactantes, en el momento actual se ha podido completar la entrevista telefónica en 114 casos, al haber alcanzado los niños la edad de 18 meses. De ellos 23 habían sido diagnosticados de dermatitis atópica y 1 de alergia alimentaria. El resto de los lactantes (90) no habían presentado ninguna manifestación de alergia en el periodo de seguimiento.

La mitad de los niños alérgicos eran hijos de madres alérgicas. En los restante 12 casos de lactantes con diagnóstico de alergia antes de los 18 meses de edad, no existía el antecedente de alergia en la madre, pero si en el padre en 5 casos y en los hermanos en 1 caso.

La clasificación como "alérgico" se estableció en aquellos sujetos que habían sido diagnosticado en alguna ocasión de asma, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica, dermatitis atópica o alergia a alimentos, considerándose no alérgico quien no habían sido diagnosticados de ninguna de estas enfermedades y contestaron a todas las preguntas de la encuesta relacionadas con posibles síntomas de enfermedades alérgicas, de manera negativa. La clasificación alérgico/no alérgico fue comprobada mediante llamada telefónica posterior a las participantes, coincidiendo con la edad de 18 meses del lactante.

No habían diferencias significativas entre las madres alérgicas y no alérgicas en ninguna de las variables recogidas en las siguientes tablas

Alergia en la madre		N	Media	Desviación típ.
Edad Madre	no alergica	87	34,9425	3,55147
	Alérgica	67	34,0000	3,13340
Peso Madre	no alergica	86	66,1500	10,77752
	Alérgica	66	65,7879	10,52545
Talla Madre	no alergica	77	165,4545	6,52837
	Alérgica	65	164,3231	6,56722
Aumento Peso en la gestación	no alergica	85	12,56	4,339
	Alérgica	67	12,77	5,475
Numero Hijos	no alergica	87	1,3908	,63532
	Alérgica	67	1,3881	,54925
Gasto Ejercicio	no alergica	87	454,7586	879,34267
	Alérgica	68	441,9706	709,35249
Edad Gestacional	no alergica	87	39,3448	1,80328
	Alérgica	67	39,3433	1,40941
Peso nacimiento	no alergica	87	3222,2271	668,69754
	Alérgica	67	3321,7910	455,75125
Edad del bebé	no alergica	87	,5526	,63967
	Alérgica	68	,6356	,57467
LM exclusiva	no alergica	69	5,27	2,037
	Alérgica	56	5,10	1,906
Edad del destete	no alergica	63	5,52	8,693
	Alérgica	49	5,31	7,898
Inicio Alimentación Complementaria	no alergica	65	5,98	,992
	Alérgica	54	5,57	1,159

		Alergia en la madre		Total
		no alergica	alergica	
Frecuencia de consumo de Pescado	Nunca	4	1	5
	Diariamente	1	2	3
	1-2 veces semana	50	35	85
	3-4 veces semana	14	16	30
	5-6 veces semana	2	3	5
	1-2 veces mes	9	2	11
	3-4 veces mes	6	4	10
Total		86	63	149

		Alergia en la madre		Total
		no alergica	alergica	
Frecuencia de consumo de Marisco	Nunca	18	15	33
	1-2 veces/sem.	5	8	13
	5-6 veces/sem.	0	1	1
	1-2 veces mes	42	31	73
	3-4 veces mes	6	5	11
	Ocasionalmente	10	4	14
Total		81	64	145

		Alergia en la madre		Total
		no alergica	alergica	
Tabaquismo en la madre	No	80	64	144
	Si	4	3	7
Total		84	67	151

		Alergia en la madre		Total
		no alergica	Alérgica	
Suplemento de Omega3	No	55	45	100
	Si	32	22	54
Total		87	67	154
Mg/día de Omega3 en madres que tomaban suplementos		180±80	176±89	178±83

		Alergia en la madre		Total
		no alergica	alergica	
Depresión en la madre lactante	No	75	59	134
	Si	7	8	15
Total		82	67	149

Al comparar los 24 niños que fueron diagnosticados de alergia atópica en los primeros 18 meses de vida, con los 89 que no presentaron ninguna manifestación de alergia en esa etapa, comprobamos que no habían diferencias significativas en la edad materna ($34,8 \pm 2,7$ vs $34,7 \pm 3,6$ años), el padecimiento de alergia en la madre (54% vs 46%), el peso al nacimiento (3288 ± 512 vs 3270 ± 586 gr) ni la duración de la lactancia materna exclusiva ($5,7 \pm 1,2$ vs $5,6 \pm 1,4$ meses).

Las especies de pescado más consumidas por las madres encuestadas fueron (por ese orden): Merluza (50% de las madres), Atún (33%), sardina, dorada, salmón y lubina

Contenido lipídico y perfil de ácidos grasos, y nivel de peróxidos, en las muestras de leche materna.

No hubo diferencias significativas cuando se comparó el perfil de ácidos grasos de la leche materna en función de su procedencia (Madrid o Tenerife), con la excepción del 16:1 (n-7). Dada esta escasa diferencia, en las siguientes comparaciones las muestras han sido tratadas en conjunto independientemente de su procedencia.

- Perfil de ácidos grasos de la leche materna y el consumo de pescado o suplementación con omega-3 por parte de madres lactantes. Con la finalidad de determinar si el consumo de distintos tipos de pescado (blanco, semigraso y azul) así como de suplementos de ω -3, podría influir en el perfil de ácidos grasos de la leche materna, se comparó el contenido en ácidos grasos de la leche de madres clasificadas en función del tipo de pescado consumido.

No existían diferencias significativas entre el perfil de ácidos grasos de leche de madres consumidoras de pescado blanco y aquellas que no lo eran. Sin embargo, respecto al consumo de pescado semigraso se observan diferencias significativas para el ácido graso 20:5(n-3) y, los ratios EPA/AA, DHA/AA y n-3/n-6 los cuales alcanzan niveles superiores en el grupo de madres consumidoras, mientras que el ratio DHA/EPA presenta valores superiores en las no consumidoras (ver figuras 1 y 2).

En relación al consumo de pescado azul, existen diferencias significativas para los sumatorios n-6 y n-6 LCPUFA, los cuales se presentan en cantidades superiores en el grupo de madres no consumidoras (ver figura 3).

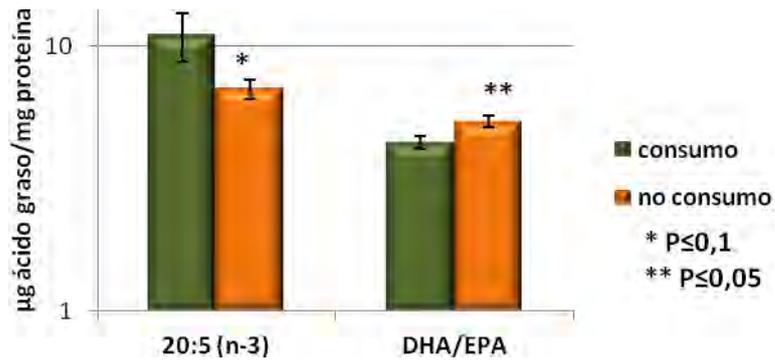


Figura 1. Contenido de los ácidos grasos 20:5 (n-3) y ratio DHA/EPA de leche procedente de madres consumidoras y no consumidoras de PESCADO SEMIGRASSO

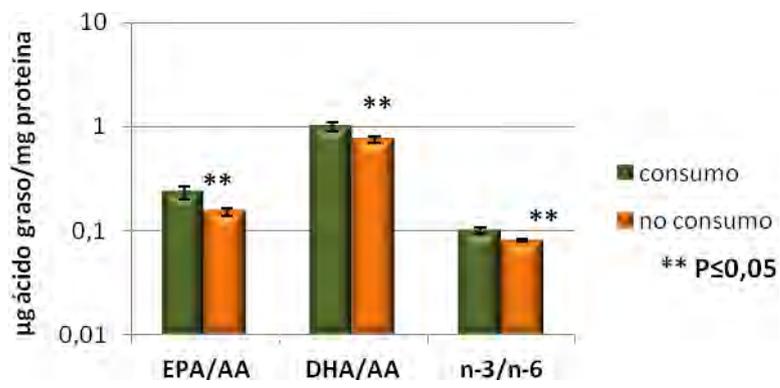


Figura 2. Ratios EPA/AA, DHA/AA y n-3/n-6 de leche procedente de madres consumidoras y no consumidoras de PESCADO SEMIGRASSO

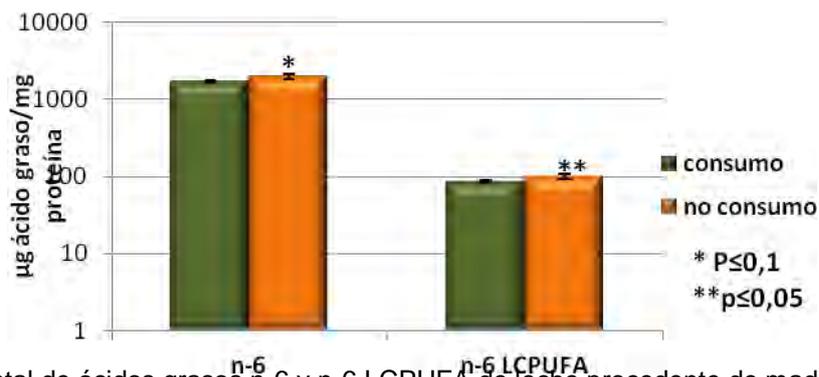


Figura 3. Contenido del total de ácidos grasos n-6 y n-6 LCPUFA de leche procedente de madres consumidoras y no consumidoras de PESCADO AZUL

Composición en ácidos grasos (μg ácido graso/mg proteína) de muestras de leche en relación al consumo de pescado.

	CONSUMO DE PESCADO					
	PESCADO BLANCO		PESCADO SEMIGRASO		PESCADO AZUL	
	CONSUMO	NO CONSUMO	CONSUMO	NO CONSUMO	CONSUMO	NO CONSUMO
C14:0	678,14 \pm 36,36	628,60 \pm 88,70	698,65 \pm 58,53	657,51 \pm 41,09	672,71 \pm 38,78	663,60 \pm 67,57
C16:0	2413,26 \pm 95,57	2368,33 \pm 270,33	2318,36 \pm 145,26	2447,80 \pm 114,22	2363,62 \pm 100,12	2552,47 \pm 206,62
C18:0	692,21 \pm 27,69	644,20 \pm 75,33	651,01 \pm 41,97	700,87 \pm 32,81	670,58 \pm 29,45	733,93 \pm 55,63
Saturados	4958,86 \pm 194,22	4763,41 \pm 522,85	4823,24 \pm 290,88	4979,04 \pm 230,95	4861,23 \pm 203,85	5161,21 \pm 405,50
C16:1(n-7)	223,01 \pm 10,68	219,81 \pm 20,83	222,77 \pm 14,93	222,41 \pm 12,24	221,02 \pm 10,46	227,68 \pm 22,91
C18:1(n-9)	4767,41 \pm 181,59	4598,39 \pm 477,80	4683,38 \pm 268,76	4769,27 \pm 215,74	4643,68 \pm 190,23	5076,32 \pm 370,74
C18:1(n-7)	338,52 \pm 13,98	349,41 \pm 32,28	334,95 \pm 20,20	342,61 \pm 16,28	336,70 \pm 14,34	351,97 \pm 28,44
C20:1(n-9)	46,51 \pm 1,97	43,80 \pm 4,12	47,23 \pm 3,73	45,56 \pm 1,96	44,97 \pm 2,07	49,94 \pm 3,46
Monoenos	5527,47 \pm 209,80	5375,33 \pm 538,32	5430,30 \pm 307,98	5539,24 \pm 248,43	5397,46 \pm 218,40	5869,05 \pm 429,71
C18:2(n-6)	1711,73 \pm 75,93	1471,64 \pm 181,77	1595,57 \pm 114,26	1712,87 \pm 88,29	1610,01 \pm 77,41	1898,28 \pm 157,06
C18:3(n-6)	15,09 \pm 0,91	16,73 \pm 2,24	14,56 \pm 1,14	15,70 \pm 1,11	14,68 \pm 0,82	17,59 \pm 2,40
C20:4(n-6)	45,16 \pm 1,79	42,92 \pm 3,60	43,49 \pm 2,75	45,44 \pm 1,99	43,39 \pm 1,70	49,68 \pm 4,06
n-6	1796,88 \pm 79,52	1565,61 \pm 187,93	1667,58 \pm 120,26	1806,15 \pm 91,85	1691,13 \pm 80,52	2003,05 \pm 165,28 *
n-6 LCPUFA	89,91 \pm 3,62	89,04 \pm 7,48	86,62 \pm 5,22	91,26 \pm 4,13	86,39 \pm 3,34	101,32 \pm 8,53 **
C18:3(n-3)	76,27 \pm 4,19	64,78 \pm 6,48	78,15 \pm 6,44	72,83 \pm 4,53	72,95 \pm 4,23	79,91 \pm 7,71
C20:5(n-3)	8,65 \pm 0,98	5,77 \pm 1,14	11,04 \pm 2,31	6,89 \pm 0,59 *	8,41 \pm 1,06	7,57 \pm 1,11
C22:6(n-3)	37,48 \pm 2,82	30,36 \pm 3,33	43,85 \pm 5,82	32,91 \pm 2,29	36,01 \pm 2,89	37,74 \pm 4,61
n-3	148,24 \pm 7,76	124,65 \pm 11,62	160,09 \pm 14,79	137,43 \pm 7,21	142,15 \pm 7,95	153,27 \pm 13,45
n-3 LCPUFA	64,23 \pm 4,59	51,75 \pm 5,72	75,14 \pm 9,66	56,34 \pm 3,61	61,80 \pm 4,71	64,17 \pm 7,44
LCPUFA	154,13 \pm 6,98	140,79 \pm 11,87	161,76 \pm 13,09	147,59 \pm 6,72	148,19 \pm 6,92	165,50 \pm 13,68
n-3/n-6	0,09 \pm 0,00	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,08 \pm 0,00 **	0,09 \pm 0,00	0,08 \pm 0,01
DHA/EPA	4,85 \pm 0,20	5,16 \pm 0,62	4,32 \pm 0,24	5,18 \pm 0,26 **	4,84 \pm 0,22	5,11 \pm 0,44
EPA/AA	0,19 \pm 0,02	0,13 \pm 0,02	0,23 \pm 0,03	0,15 \pm 0,01 **	0,19 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02
DHA/AA	0,84 \pm 0,05	0,74 \pm 0,07	0,99 \pm 0,09	0,75 \pm 0,05 **	0,84 \pm 0,05	0,79 \pm 0,09

Los datos están expresados como media \pm SEM *P \leq 0,1 **P \leq 0,05

En lo referente al consumo de suplemento de ω -3, en la siguiente **tabla** se pueden observar los perfiles de ácidos grasos de muestras de leche materna procedente de madres que consumieron suplemento de ω -3 durante el embarazo y lactancia y las que no lo tomaron. El análisis de los resultados no muestra diferencias significativas entre ambos grupos, con la excepción del ratio DHA/AA que fue superior en las muestras de madres consumidoras de suplemento de ω -3.

Contenido en ácidos grasos (μg ácido graso/mg proteína) de leche de madres lactantes en función del consumo de suplemento con ω -3 durante el embarazo y lactancia.

	suplemento ω -3	no suplemento ω -3
C14:0	604,45 \pm 60,04	740,25 \pm 42,97
C16:0	2211,32 \pm 155,45	2522,58 \pm 104,03
C18:0	645,20 \pm 49,36	708,25 \pm 28,70
Saturados	4501,11 \pm 326,53	5224,88 \pm 210,15
C16:1(n-7)	214,62 \pm 16,70	229,04 \pm 10,99
C18:1(n-9)	4358,30 \pm 338,36	4920,43 \pm 178,34
C18:1(n-7)	324,56 \pm 25,54	351,99 \pm 13,78
C20:1(n-9)	41,79 \pm 3,25	48,25 \pm 2,00
Monoenos	5079,07 \pm 389,75	5711,91 \pm 205,69
C18:2(n-6)	1495,10 \pm 115,39	1787,68 \pm 83,25
C18:3(n-6)	15,79 \pm 1,56	15,10 \pm 0,97
C20:4(n-6)	42,58 \pm 2,75	46,22 \pm 1,89
n-6	1567,69 \pm 121,68	1881,09 \pm 86,50
n-6 LCPUFA	87,27 \pm 5,67	91,52 \pm 3,77
C18:3(n-3)	65,14 \pm 5,02	79,94 \pm 4,57
C20:5(n-3)	8,16 \pm 1,37	8,35 \pm 1,07
C22:6(n-3)	38,04 \pm 3,89	36,10 \pm 3,01
n-3	135,65 \pm 11,04	151,25 \pm 8,30
n-3 LCPUFA	63,88 \pm 7,20	62,65 \pm 4,90
LCPUFA	151,15 \pm 10,97	154,17 \pm 7,31
n-3/n-6	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 0,00
DHA/EPA	5,50 \pm 0,28	4,81 \pm 0,24
EPA/AA	0,19 \pm 0,03	0,17 \pm 0,02
DHA/AA	0,91 \pm 0,07	0,80 \pm 0,05 **

Los valores

están expresados como media \pm SEM.

**p \leq 0,05

-Comparación del contenido lipídico y el perfil de ácidos grasos de la leche según la condición de alergia de las madres lactantes. No encontramos diferencias significativas en el contenido lipídico (lípidos total y clases lipídicas) y el perfil en ácidos grasos, de muestras de leche de madres alérgicas y no alérgicas

Al comparar el perfil de ácidos grasos de las muestras de leche materna de madres alérgicas y no alérgicas encontramos diferencias significativas para los siguientes ácidos grasos: linolénico: 18:3 (n-3), eicosapentaenoico (EPA): 20:5 (n-3), docosahexaenoico (DHA) 22:6(n-3), contenido total de n-3 LCPUFA (omega 3), y los ratios n-3/n-6, EPA/ ácido araquidónico (AA) y DHA/AA. Todos ellos se presentan en niveles superiores en las muestras de leche materna de madres alérgicas (ver figuras 4 y 5).

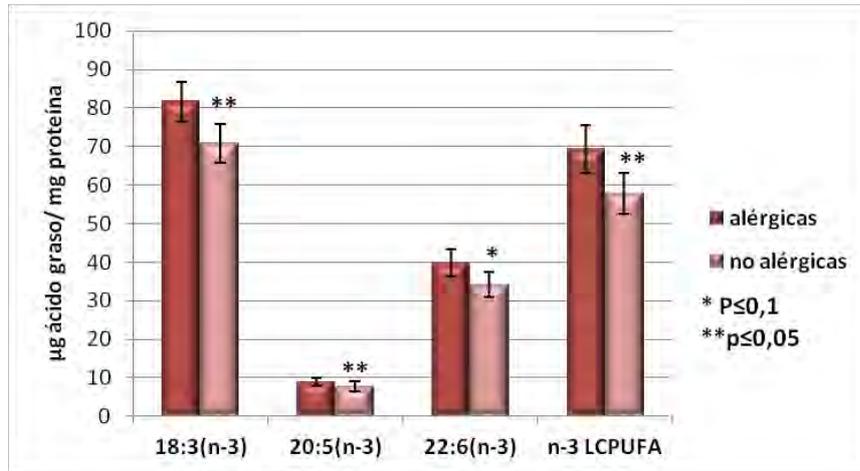


Figura 4. Contenido en ácidos grasos 18:3 (n-3), 20:5 (n-3), 22:6 (n-3) y sumatorio n-3 LCPUFA de leche procedente de madres alérgicas y no alérgicas

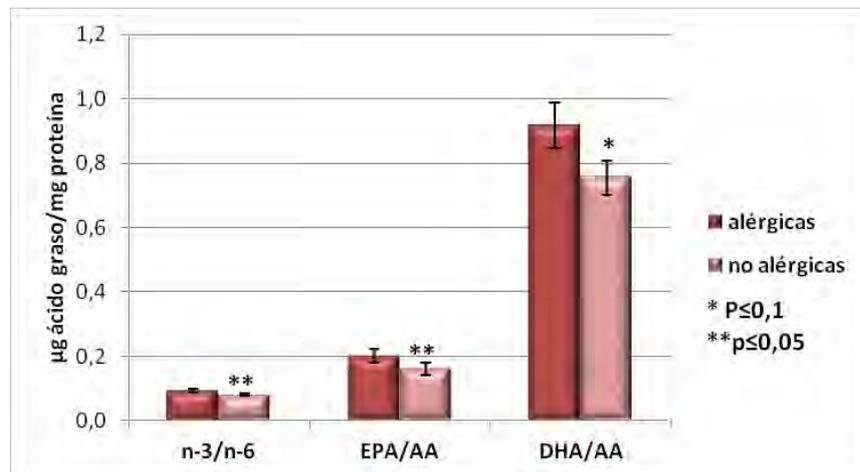


Figura 5. Ratios n-3/n-6, EPA/AA y DHA/AA de leche procedente de madres alérgicas y no alérgicas

Composición en ácidos grasos (μg ácido graso/mg proteína) de muestras de leche de madres alérgicas y no alérgicas.

	ALÉRGICAS		NO ALÉRGICAS		
C14:0	745,12	\pm 53,93	665,50	\pm 46,89	
C16:0	2512,03	\pm 135,54	2369,00	\pm 113,44	
C18:0	698,41	\pm 35,48	683,43	\pm 34,96	
Saturados	5183,58	\pm 266,23	4881,44	\pm 240,87	
C16:1(n-7)	231,44	\pm 14,00	219,57	\pm 12,17	
C18:1(n-9)	4896,05	\pm 234,59	4647,41	\pm 221,21	
C18:1(n-7)	349,60	\pm 17,88	339,65	\pm 16,89	
C20:1(n-9)	48,77	\pm 2,86	44,45	\pm 2,06	
Monoenos	5674,39	\pm 268,92	5412,77	\pm 256,06	
C18:2(n-6)	1722,96	\pm 96,24	1688,07	\pm 97,61	
C18:3(n-6)	14,06	\pm 1,20	16,31	\pm 1,11	
C20:4(n-6)	45,89	\pm 2,31	44,60	\pm 2,14	
n-6	1804,69	\pm 101,74	1780,19	\pm 101,02	
n-6 LCPUFA	91,12	\pm 4,88	89,64	\pm 4,10	
C18:3(n-3)	81,63	\pm 5,18	70,85	\pm 4,95	**
C20:5(n-3)	8,95	\pm 1,08	7,76	\pm 1,28	**
C22:6(n-3)	39,73	\pm 3,49	34,15	\pm 3,32	*
n-3	158,55	\pm 9,95	137,16	\pm 9,01	
n-3 LCPUFA	69,40	\pm 6,23	57,78	\pm 5,26	**
LCPUFA	160,52	\pm 9,03	147,41	\pm 8,19	
n-3/n-6	0,09	\pm 0,01	0,08	\pm 0,00	**
DHA/EPA	5,02	\pm 0,26	5,00	\pm 0,28	
EPA/AA	0,20	\pm 0,02	0,16	\pm 0,02	**
DHA/AA	0,92	\pm 0,07	0,76	\pm 0,05	*

Los datos están expresados como media \pm SEM* $P \leq 0,1$ ** $P \leq 0,05$

-Comparación del contenido lipídico y el perfil de ácidos grasos de la leche según la condición de alergia de los lactantes. No observamos diferencias significativas al comparar el contenido lipídico y el perfil de ácidos grasos de la leche materna en función de la condición de alergia en el lactante

Contenido lipídico, perfil de ácidos grasos y nivel de peróxidos de las especies de pescado seleccionadas por su elevado consumo entre las madres lactantes.

En la siguiente **tabla** se muestran los valores de composición media de grasa, índice de peroxidación lipídica y perfil de ácidos grasos de las principales especies de pescado consumidas por las madres incluidas en el estudio.

Contenido de lípido total, índice de peroxidación lipídica y perfil de ácidos grasos de las principales especies de pescados consumidos por las madres sometidas a estudio.

	PESCADO BLANCO			PESCADO SEMIGRASO			PESCADO AZUL											
	MERLUZA			LUBINA (cultivo)		DORADA (cultivo)	ATÚN		SARDINA	SALMÓN								
% lípido total	3,1	±	0,3	6,5	±	1,8	7,9	±	0,4	7,5	±	1,8	8,2	±	2,5	26,9	±	7,3
índice peroxidación	3,9	±	0,4	21,1	±	3,2	19,8	±	3,8	5,5	±	1,0	3,4	±	0,6	2,7	±	0,5
C16:0	18,5	±	0,6	22,6	±	0,8	17,9	±	0,1	20,3	±	0,6	22,6	±	0,2	11,2	±	0,8
C18:0	4,9	±	0,4	6,0	±	0,6	4,7	±	0,2	8,0	±	0,5	4,9	±	0,1	2,9	±	0,3
Saturados	30,8	±	0,6	31,8	±	1,1	25,6	±	0,1	30,4	±	0,4	31,9	±	0,8	16,9	±	1,0
C18:1(n-9)	15,2	±	2,4	26,5	±	1,8	29,6	±	0,7	13,3	±	1,4	8,1	±	0,4	30,1	±	3,2
Monoenos	28,0	±	3,7	37,4	±	2,5	43,1	±	0,8	23,0	±	2,4	15,3	±	1,2	43,1	±	2,6
C18:2(n-6)	1,7	±	0,3	12,9	±	0,6	15,3	±	0,3	1,7	±	0,4	1,7	±	0,1	12,6	±	2,0
C18:3(n-6)	0,0	±	0,0	0,1	±	0,0	0,2	±	0,0	0,2	±	0,1	0,0	±	0,0	0,0	±	0,0
C20:4(n-6)	2,9	±	0,4	0,7	±	0,2	0,7	±	0,0	3,3	±	0,7	1,2	±	0,1	0,4	±	0,0
n-6	5,3	±	0,7	15,0	±	0,4	17,3	±	0,3	8,0	±	1,4	4,4	±	0,3	13,2	±	2,1
C18:3(n-3)	0,4	±	0,1	1,5	±	0,1	1,4	±	0,0	0,5	±	0,1	0,9	±	0,1	4,7	±	0,8
C20:5(n-3)	8,7	±	1,0	4,4	±	0,5	2,2	±	0,1	4,6	±	0,4	7,8	±	1,1	4,1	±	0,7
C22:6(n-3)	26,3	±	2,6	6,5	±	1,4	7,2	±	0,3	26,5	±	2,8	33,5	±	2,6	6,8	±	2,2
n-3	37,5	±	3,4	14,8	±	1,8	13,2	±	0,6	33,4	±	2,6	44,8	±	1,6	18,7	±	2,6
n-3 LCPUFA	36,7	±	3,3	12,8	±	1,9	11,2	±	0,5	32,9	±	2,7	42,8	±	1,8	13,3	±	3,0
LCPUFA	40,2	±	3,5	13,7	±	2,2	12,3	±	0,5	38,8	±	2,8	45,2	±	1,9	14,0	±	2,9
n-3/n-6	8,0	±	0,9	1,0	±	0,2	0,8	±	0,0	5,2	±	0,9	11,6	±	0,8	2,2	±	0,9
DHA/EPA	3,4	±	0,3	1,4	±	0,1	3,2	±	0,1	6,7	±	0,9	5,2	±	0,9	1,7	±	0,2
EPA/AA	3,4	±	0,4	6,2	±	0,5	3,1	±	0,1	1,9	±	0,4	7,3	±	0,6	12,1	±	1,6
DHA/AA	10,8	±	1,6	8,8	±	0,1	10,1	±	0,3	10,1	±	1,5	32,5	±	3,3	19,5	±	5,4

Valores expresados como media \pm SEM. Lípido total (mg lípido/100 mg tejido), índice de peroxidación (meq O₂ / kg grasa), ácidos grasos (%). Tamaño muestral: n=6 para merluza, atún, sardina y salmón; n=4 para lubina y dorada.

Contenido en citoquinas en leche humana.

Las citoquinas estudiadas fueron detectadas en las siguientes muestras de leche madura: IL1 beta: 25%, IL2: 42%, IL4: 23%, IL5: 17%, IL10: 28%, IFN gamma: 25%, TGF beta1:16% y TNF:18%.

Descartamos de los análisis estadísticos las siguientes citoquinas, dado que el porcentaje de detección fué muy bajo, inferior al 10% de las muestras analizadas: IL9, IL12 y RANTES

Comprobamos que existía una correlación negativa y significativa entre la edad materna y el contenido en IFN gamma en la leche: $r=-0.35$, $p= 0.003$, $n= 39$. La concentración de citoquinas en leche materna no se correlacionaba de forma significativa con ninguna otra de las variables incluidas en el estudio

El IFN-GAMMA: producido por numerosos tipos celulares, es la citoquina preponderante en la respuesta inmune tipo Th1, inhibiendo la respuesta Th2, si bien se ha demostrado que también actúa de manera sinérgica con las citoquinas de la vía Th2 en el mantenimiento de la inflamación alérgica a nivel local (Ngoc,2005). Presenta un potente efecto inmunorregulador, antiviral y antitumoral, así como proinflamatorio, si bien inhibe la síntesis de IgE (Böttcher,2000a; Böttcher,2003a). Se han demostrado menores niveles de la citoquina en suero de asmáticos comparados con sujetos control (Hussein, 2009; Huang, 2012). En algunos trabajos, como el de Böttcher y cols (Böttcher,2000a) se detecta en menos de un 10% de las muestras de calostro, y aún con menor frecuencia en leche madura; otros (Rudloff,1999) son incluso incapaces de determinarla en leche materna. Sin embargo, otros trabajos (Eglinton,1994) encuentran IFN-g en la mayor parte de muestras de calostro y leche transicional, con niveles 4 veces mayores a los presentes en suero, lo cual indicaría que existe producción local de esta citoquina en la glándula mamaria, a partir de linfocitos T contenidos en la leche. Por último, al comparar a mujeres alérgicas con un grupo control, no se detectan diferencias significativas en la concentración de IFN-g en suero o leche, pero sí en el suero y las heces de sus hijos al año de vida, objetivándose mayores niveles de esta citoquina en la descendencia de las mujeres con manifestaciones alérgicas (Prokesová,2006). En otro trabajo (Böttcher,2003a) se estudia el efecto que tiene la adición de calostro a células mononucleares de cordón activadas con un mitógeno y un alérgeno, observándose que se inhibe la producción por estas células de IFN-g, así como de IL-4, lo cual confirma que la leche materna presente actividad anti-inflamatoria, y que mediante este mecanismo podría proteger frente al padecimiento de alergia.

No habían diferencias significativas en el contenido en las citoquinas estudiadas en leche materna (en picogr/mL) entre las madres alérgicas y no alérgicas

Tampoco existían diferencias significativas entre el contenido de las citoquinas analizadas según la procedencia de la muestra (Madrid-Tenerife) ni al comparar las madres consumidoras de pescado blanco y aquellas que no lo eran.

Tampoco se observaron diferencias respecto al consumo de pescado semigraso ni al consumo de pescado azul, ni a la toma de suplementos de omega 3 durante la lactancia.

La concentración media de TGF beta 1 era mas alta y la de IL1 beta, IL2, IL4, IL5, IL10, IFN gamma y TNF más baja, en la leche materna de las madres de esta grupo de lactantes diagnosticados de alergia, si bien las diferencias solo fueron significativas para la IL10 ($p=0.01$).

Alergia en el bebé		N	Media	Error típ. de la media
IL4	no alergico	27	3,9633	1,00112
	si alergico	9	2,0100	,24642
IL10 *	no alergico	30	3,8233	,57008
	si alergico	10	1,8370	,21771
IFN gamma	no alergico	29	5,9166	1,68953
	si alergico	6	2,9233	1,71821
TGF beta1	no alergico	16	282,3975	55,53381
	si alergico	7	428,1357	83,87093
IL1 beta	no alergico	29	3,6159	1,40233
	si alergico	9	2,2233	,35729
TNF	no alergico	20	5,3790	1,58182
	si alergico	6	2,2333	,19738
IL5	no alergico	21	1,1995	,19334
	si alergico	5	,5920	,14242
IL2	no alergico	46	9,5943	1,00507
	si alergico	13	6,6646	,91516

* $p=0.01$

La IL-10 es una interleucina producida principalmente por monocitos, pero también por linfocitos T y B, macrófagos, eosinófilos, células pulmonares dendríticas queratinocitos, mastocitos y células trofoblásticas (Campos Alberto, 2008), se trata de una citoquina pleiotrópica inmunomoduladora que puede inhibir a linfocitos Th1 y Th2. Cuenta con un potente efecto antiinflamatorio, dado que inhibe la acción de proteínas proinflamatorias como TNF-alfa, IFN-gamma, IL-2, IL-5 y IL-12 o GM-CSF entre otras. También se ha comprobado su efecto inhibitor sobre la síntesis de IgE, mientras que estimula la síntesis de IgA (Böttcher,2000a; Böttcher,2003a), así como también la proliferación y supervivencia de los linfocitos B así como la producción de anticuerpos. Se trata de una citoquina fuertemente implicada en la respuesta Th2: se postula así que en ciertas enfermedades de base alérgica, como el asma, pueda existir un defecto en su transcripción (Barnes,2001), y se han detectando niveles elevados en piel lesionada y suero de sujetos con dermatitis atópica (Lacy, 2009). Se ha demostrado su presencia tanto en la fase acuosa como en la parte lipídica de la leche, si bien algunos autores han encontrado dificultades para detectar esta interleucina en leche materna (Laiho,2003; Dunstan,2004; Snijders,2006); sin embargo, otros autores como Marek (Marek,2009) la cuantifican en el 100% de las muestras de calostro analizadas, y Prokesova y cols (2006) en leche madura. Se ha comprobado que en leche materna se encuentra en concentraciones significativamente mayores en madres alérgicas respecto a la población control, detectándose un pico en la concentración en madres alérgicas en los primeros meses de lactancia, para ir bajando progresivamente hasta niveles incluso menores que en madres sanas después de los 6 meses (Prokesova,2006), aunque no todos autores encuentran relación entre su concentración y el antecedente de alergia materna (Rigotti,2006).

Contenido en eicoisanoides: prostaglandinas y leucotrienos, en las muestras de leche materna.

No se observaron diferencias significativas en los niveles de prostaglandina E2 ni en los niveles de leucotrienos en las muestras de leche analizadas, al comparar las madres alérgicas y no alérgicas.

Concentración de LTE4 y PGE2 (pg/ml) en muestras de leche materna procedentes de madres alérgicas y no alérgicas. Los valores están expresados como media \pm SEM.

	alérgicas		no alérgicas	
LTE4	6082,96	± 899,38	6271,43	± 1091,31
PGE2	161,37	± 26,34	180,07	± 28,54

Tampoco existían diferencias significativas en función del padecimiento de alergia en el lactante

Alergia en el bebé		N	Media	Error típ. de la media
PGE2	no alérgico	54	348,7388	167,41969
	si alérgico	16	420,7849	194,75472
LTE4	no alérgico	27	6305,0339	990,75018
	si alérgico	11	5825,7635	1933,49918

No observamos diferencias significativas al comparar el contenido en eicoisanoideos en leche materna según la procedencia de la muestra (Madrid-Tenerife) ni según la frecuencia de consumo de pescado ni la suplementación con omega 3.

CONCLUSIONES Y PROSPECTIVA

Los resultados de este estudio apuntan a una posible relación entre el contenido de IL 10 en leche materna y manifestaciones de Dermatitis atópica en el lactante. No obstante, dada la amplia variabilidad en la concentración de citoquinas en leche materna, es necesario ampliar el tamaño muestral para llegar a conclusiones definitivas.

Comprobamos asimismo que existía una correlación negativa y significativa entre la edad materna y el contenido en IFN gamma en la leche.

El patrón de consumo de pescado semigraso y de pescado azul parece influir en el perfil de ácidos grasos de la leche materna.

La ingesta de suplementos de omega 3 podría relacionarse con niveles más altos del ratio DHA/AA en leche materna.

Por último, en la leche de madres alérgicas, los ácidos grasos omega-3 se hallan incrementados respecto al grupo de madres no alérgicas, lo que sugiere la existencia de un metabolismo lipídico diferencial entre ambas poblaciones y, podría explicar el mayor efecto protector de la leche materna frente a la alergia que se ha descrito en los hijos de madres alérgicas en comparación con los niños sin antecedentes de alergia. No obstante, es preciso completar el estudio para llegar a conclusiones definitivas

Se sabe que la alergia mediada por IgE tiene un fuerte componente hereditario, pero en el desarrollo de estas enfermedades también participan factores ambientales. Se ha señalado que el ambiente libre de humo de tabaco y la alimentación con lactancia materna exclusiva durante 4-6 meses son las medidas más eficaces para la prevención de la alergia.

A pesar de la evidencia científica actualmente disponible sobre el papel de la lactancia materna en la prevención de las enfermedades alérgicas (Friedman et al 2005, Kneepkens 2010, Sonnenschein-van der Voort 2011), el debate sobre este tema continúa, al existir disparidad en los resultados de los estudios publicados (Kramer 2011).

Las discrepancias entre los resultados de estos estudios se pueden explicar por diferencias en el diseño del estudio: prospectivo/retrospectivo, observacional/intervención, tamaño de la muestra, periodo de seguimiento, etc. Por otro lado, la naturaleza multifactorial de las enfermedades alérgicas implica que la modificación de una sola causa (lactancia materna), sólo tendrá efectos limitados. Por último, las diferencias genéticas pueden influir considerablemente en la asociación entre la lactancia materna y el riesgo de alergia (Kneepkens 2010).

En revisiones sistemáticas y meta-análisis de estudios observacionales se demuestra el efecto protector de la lactancia materna exclusiva frente a las enfermedades alérgicas, que se mantiene en niños mayores de 5 años de edad (Van Odijk 2003, Gdalevich 2001b). Actualmente continúa sin conocerse bien el mecanismo por el que la leche materna podría ejercer este efecto protector frente a la alergia, pero se cree que puede guardar relación con su contenido en ácidos grasos omega-3, citoquinas y otros péptidos bioactivos con propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras (Klemens 2010, Kneepkens 2010).

Confiamos en que los resultados de este trabajo de investigación pueda contribuir al avance en los conocimientos existentes acerca de los factores que pueden actuar como protectores frente a la alergia, una patología de elevada prevalencia en la mujer en edad reproductiva y en sus hijos, especialmente el papel que pueden desempeñar los ácidos grasos omega-3 y las citoquinas presentes en la leche materna, en la mayor o menor prevalencia e intensidad de síntomas de alergia. Es necesario desarrollar nuevos estudios que exploren las posibles interacciones entre factores genéticos y alimentación infantil, así como los efectos de algunos micronutrientes y las exposiciones ambientales en el riesgo de la enfermedad alérgica.

BIBLIOGRAFÍA

- American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Hypoallergenic infant formulas. *Pediatrics* 2000; 106: 346-349.
- Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CKW, Strachan DP, Weiland SK, Williams H and the ISAAC Phase Three Study Group. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC phases one and three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368: 733-43
- Bishop JE, Davis KA. A flow cytometric immunoassay for beta2-microglobulin in whole blood. *J Immunol Methods*. 1997;210:79-87.
- Böttcher MF, Fredriksson J, Hellquist A, Jenmalm MC. Effects of breast milk from allergic and non-allergic mothers on mitogen- and allergen-induced cytokine production. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14(1):27-34
- Böttcher MF, Jenmalm MC, Garofalo RP, Björkstén B. Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. *Pediatr Res* 2000;47(1):157-62
- Blumer N, Renz H, 2007. Consumption of omega3-fatty acids during perinatal life: role in immuno-modulation and allergy prevention. *J Perinat Med* 35(Suppl 1):S12–18.
- Borja-Hart NL, Marino J, 2010. Role of omega-3 Fatty acids for prevention or treatment of perinatal depression. *Pharmacotherapy*. 30(2):210-6
- Carvajal-Urueña I, García-Marcos L, Busquets-Monge R, Morales Suárez-Varela M, García de Andoin N, Batlles-Garrido J, et al. Variaciones geográficas en la prevalencia de síntomas de asma en los niños y adolescentes españoles. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) fase III España. *Arch Bronconeumol* 2005;41(12):659-66
- Carson R, Vignali D. Simultaneous quantitation of fifteen cytokines using a multiplexed flow cytometric assay. *J Immunol Methods*. 1999;227:41-52.
- Carlson SE, 2009. Docosahexaenoic acid supplementation in pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 89: 678S-684S
- Carrillo L, Dalmau J, Martínez JR, Solá R, Pérez F. Grasa de la dieta y salud cardiovascular. *An Pediatr (Barc)* 2011; 74: 192.e1-192.e16.
- Castellote C., Casillas R., Ramírez-Santana C., Pérez-Cano F., Castell M., Moretones G., López-Sabater M., Franch A. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *J. Nutr.* 2011; 141:1181-1187
- Chen R, Lowe L, Wilson JD, et al. Simultaneous quantification of six human cytokines in a single sample using microparticle-based flow cytometric technology. *Clin Chem*. 1999;45:1693-1694
- Christie, W.W., 1982. *Lipids Analysis*, 2nd edn. Pergamon, Oxford.
- Cook EB, Stahl JL, Lowe L, et al. Simultaneous measurement of six cytokines in a single sample of human tears using microparticle-based flow cytometry: allergics vs. non-allergics. *J Immunol Methods*. 2001;254:109-118.
- Díaz-Gómez, Morales I. Lactancia Materna. En: Ruiz González MD, Martínez Barelillas MR y González Carrión P. *Enfermería del Niño y el Adolescente Volumen I*, 2ª edición, de la colección *Enfermería S21*. Editorial DAE (Grupo Paradigma). 2006: 276-293.
- Dalmau J, Martorell A y Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. Alergia a proteínas de leche de vaca: prevención primaria. Aspectos nutricionales. *An Pediatr (Barc)* 2008; 68: 295-300.
- Dunstan JA, Mori TA, Barden A, et al. Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:1178–1184
- Dunstan JA, Roper J, Mitoulas L, Hartmann PE, Simmer K, Prescott SL. The effect of supplementation with fish oil during pregnancy on breast milk immunoglobulin A, soluble CD14, cytokine levels and fatty acid composition. *Clin Exp Allergy* 2004;34(8):1237-42
- Elliott L, Henderson J, Northstone K, et al. Prospective study of breast-feeding in relation to wheeze, atopy, and bronchial hyperresponsiveness in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC) *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122:49–54.
- Field C. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J. Nutr* 2005;135:1–4
- Flohr C. Recent perspectives on the global epidemiology of childhood eczema. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2011;39:174-82.
- Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J Allergy Clin*

- Immunol 2005;115:1238-48.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
 - Garofalo R. Cytokines in human milk. *J Pediatr* 2010;156(2 Suppl):S36-40
 - -Gdalevich M, Mimouni D, Mimouni M. Breast-feeding and the risk of bronchial asthma in childhood: a systematic review with meta-analysis of prospective studies. *J Pediatr* 2001;139(2):261-6
 - Gil-Campos M, Dalmau J y Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. *An Pediatr (Barc)* 2010; 73: 142.e1-142.e8.
 - Giwercman C, Halkjaer LB, Jensen SM, Bønnelykke K, Lauritzen L, Bisgaard H. Increased risk of eczema but reduced risk of early wheezy disorder from exclusive breast-feeding in high-risk infants. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(4):866-71
 - Green SA, Malice M-P, Tanaka W, Tozzi CA, Reiss TF, 2004. Increase in urinary leukotriene LTE4 levels in acute asthma: correlation with airflow limitation. *Thorax* 59:100–104
 - Gröer MW, Shelton MM. Exercise is associated with elevated proinflammatory cytokines in human milk. *JOGNN* 2009;38:35-41
 - -Holmlund U., Amoudruz P., Johansson M.A., Haileselassie Y., Ongoiba A., Kayentao K., Traorè B., Doumbo S., Schollin J., Doumbo O., Montgotmery S.M. y Sverremark-Ekström. Maternal country of origin, breast milk characteristics and potential influences on immunity in offspring. *Clinical & Experimental Immunology* 2010, 162:500-09.
 - Host A, Koletzko B, Dreborg S, Muraro A, Wahn U, Aggett P, et al. Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy. Joint Statement of the European Society for Paediatric Allergology and Clinical Immunology (ESPACI) Committee on Hypoallergenic Formulas and the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. *Arch Dis Child.* 1999;81:80-4.
 - Klemens CM, Berman DR, Mozurkewich EL, 2011. The effect of perinatal omega-3 fatty acid supplementation on inflammatory markers and allergic diseases: a systematic review. *BJOG* 2011; 118: 916-925.
 - Kneepkens CM, Brand PL. Clinical practice: Breastfeeding and the prevention of allergy. *Eur J Pediatr.* 2010;169(8):911-7.
 - Koletzko B., Cetin I., Brenna J.T., Alvino G., von Berlepsch, J., Biesalski, H.K., Clandinin, M.T. et al., 2007. Dietary Fat Intakes for Pregnant and Lactating Women. *British Journal of Nutrition.* 98: 873-877.
 - Kramer MS, Matush L, Vanilovich I, et al. Effect of prolonged and exclusive breast feeding on risk of allergy and asthma: cluster randomised trial. *BMJ.* 2007;335:815–818.
 - Kramer MS. Breastfeeding and allergy: the evidence. *Ann Nutr Metab* 2011; 59 Suppl 1:20-26.
 - Laiho K, Lampi AM, Hamalainen M, Moilanen E, Piironen V, Arvola T, Syrjanen S, Isolauri E. Breast milk fatty acids, eicosanoids, and cytokines in mothers with and without allergic disease. *Pediatr Res* 2003;53(4):642-7
 - Lönnerdal B. Bioactive proteins in human milk: mechanisms of action. *J Pediatr* 2010;156(2 Suppl):S26-30
 - Matheson MC, Erbas B, Balasuriya A, et al. Breast-feeding and atopic disease: a cohort study from childhood to middle age. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:1051–1057
 - Maury E., Sequera S., Sánchez D., Alfonso B., Marlon R., Marcela V. Variaciones en la composición proteica de la leche materna madura durante el almacenamiento por congelación. *Pediatr.* 2010, 37; Nº 3.
 - McInnes IB. Role of cytokines in the immune system. In: *UpToDate*, Stiehm, R (Ed), UpToDate, Waltham, MA. 2010
 - Moltó-Puigmartí C, Castellote AI, Carbonell-Estrany X, López-Sabater MC. Differences in fat content and fatty acid proportions among colostrum, transitional, and mature milk from women delivering very preterm, preterm, and term infants. *Clin Nutr* 2011;30(1):116-23
 - Neu J, Wu-Wang C-Y, Measel CP, Gimotty P, 1988. Prostaglandin concentrations in human milk. *Am J Clin Nutr* 47:649–652
 - Oddy WH. The long-term effects of breastfeeding on asthma and atopic disease. *Adv Exp Med Biol.* 2009; 639:237-51.
 - Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin Exp Immunol* 2010;160(1):1-9
 - Olsen, E., Henderson, R.J., 1989. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double development HPTLC and scanning densitometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129, 189– 197
 - Olsen SF, Secher NJ, 2002. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. *BMJ*, 324:447
 - Penttila IA. Milk-derived transforming growth factor-beta and the infant immune response. *J Pediatr* 2010;156(2 Suppl):S21-5
 - Piomelli D, Astarita G, Rapaka R, 2007. A neuroscientist's guide to lipidomics. *Nat Rev Neurosci* 8:743–754.
 - Ramírez-Santana C., Pérez-Cano F.J., Audí C., Castell M., Moretones M.G., López-Sabater M.C., Castellote C., Franch A. Effects of cooling and freezing storage on the stability of bioactive factors in human colostrum. *Journal of Dairy Science* May 2012, 95;5: 2319-2325.
 - Reid B, Smith H, Friedman Z, 1980. Prostaglandins in human milk. *Pediatrics* 66:870–872.
 - Sh antha, N.C. & Decker, E.A. 1994. Rapid, Sensitive, Iron-Based Spectrophotometric Methods for Determination of Peroxide Values of Food Lipids. *Journal of the AOAC International*; Vol. 77 (2): 421-424pp
 - Smuts CM, Huang M, Mundy D, Plasse T, Major S, Carlson SE, 2003. A randomized trial of docosahexaenoic acid

- supplementation during the third trimester of pregnancy. *Obstet Gynecol* 2003; 101:469-79
- Snijders BE, Damoiseaux JG, Penders J, Kummeling I, Stelma FF, van Ree R, van den Brandt PA, Thijs C. Cytokines and soluble CD14 in breast milk in relation with atopic manifestations in mother and infant (KOALA Study). *Clin Exp Allergy* 2006;36(12):1609-15
 - Sonnenschein-van der Voort AM, Jaddoe VV, van der Valk RJ, Willemsen SP, Hofman A, Moll HA, de Jongste JC, Duijts L. Duration and exclusiveness of breastfeeding and childhood asthma-related symptoms. *Eur Respir J*. 2011 Jul 20
 - Torén K, Brisman J, Järholm B. Asthma and asthma-like symptoms in adults assessed by questionnaires. A literature review. *Chest* 1993;104:600-8
 - Van Odijk J, Kull I, Borres MP, Brandtzaeg P, Edberg U, Hanson LA, Høst A, Kuitunen M, Olsen SF, Skerfving S, Sundell J, Wille S. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy* 2003;58(9):833-43