

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE MEDICINA HUMANA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

**RECUESTO DE MACRÓFAGOS, CÉLULAS EPITELIALES Y LINFOCITOS EN
CALOSTRO MATERNO DE NEONATOS A TÉRMINO Y PRETÉRMINO.
HOSPITAL BELEN DE TRUJILLO.**

Área de investigación: Mortalidad materna e infantil.

Autor

Arbulú Díaz, María Alejandra

Asesora:

Cisneros Infantas, Luz Herlinda

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6260-0296>

Jurado evaluador

Presidente: Víctor Peralta Chávez.

Secretario: Jorge Luis Jara Morillo.

Vocal: William Edward Ynguil Amaya.

TRUJILLO – PERÚ

2023

Fecha de Sustentación: 17/04/2023

DEDICATORIA

A Dios, que permitió que todo esto se haga realidad y por acompañarme toda mi vida.

A mis padres, Consuelo e Italo, por estar impulsándome, creer en mí y brindarme todas las facilidades para poder desenvolverme.

A mi hermana, Sol, por darme palabras de ánimo y tener consideraciones conmigo.

A mi Agustina por enseñarme lo que es la paciencia, por soportar largas noches de estudio y por todo el amor que siempre me da.

A mis abuelos, Luz y Marcial, por apoyarme siempre y engreírme cada vez que estaba cansada.

AGRADECIMIENTOS

Una vez más a Dios por poner a personas maravillosas en mi vida y que me impulsen a cumplir mis metas.

A mi asesora la doctora Luz y mi co asesor, el doctor Marcos, por estar al pendiente de este trabajo, y preocuparse porque salga lo mejor posible.

A mis amistades más cercanas, por darme palabras de aliento y estar conmigo cada vez que pensaba en rendirme.

RESUMEN

Objetivo: Determinar si existe diferencia en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos pretérmino y a término adecuados para la edad gestacional. **Método:** Se realizó un estudio observacional analítico transversal, aplicado al calostro de 40 madres de recién nacidos pretérmino y 41 madres de recién nacidos a término en el que luego de identificar macrófagos, polimorfonucleares (PMN), células epiteliales y linfocitos, se realizó su recuento respectivo. **Resultados:** Existe diferencia significativa en el recuento de macrófagos ($p=0.000$), linfocitos ($p=0.000$), células epiteliales ($p=0.013$) y PMN ($p=0.000$) del calostro de mujeres de parto pretérmino y parto a término. La media del recuento de PMN presentó la mayor diferencia, siendo para partos pretérmino 181 células por lámina y 75 para partos a término. **Conclusión:** Se determinó la existencia de una diferencia estadísticamente significativa en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos pretérmino en comparación con el calostro de madres de recién nacidos a término.

Palabras clave: macrófagos, linfocitos, células epiteliales, recién nacidos pre término, recién nacidos a término, calostro.

ABSTRACT

Objective: To determine if there is a difference in the absolute count of macrophages, lymphocytes and epithelial cells in colostrum from mothers of preterm and term newborns appropriate for gestational age. **Methods:** A cross-sectional analytical observational study was performed on colostrum from 40 mothers of preterm newborns and 41 mothers of term newborns in which macrophages, polymorphonuclear (PMN), epithelial cells and lymphocytes were identified and counted. **Results:** There is a significant difference in macrophage ($p=0.000$), lymphocyte ($p=0.000$), epithelial cell ($p=0.013$) and PMN ($p=0.000$) counts of colostrum from preterm and term delivery women. The mean PMN count presented the greatest difference, being 181 cells per lamina for preterm deliveries and 75 for term deliveries. **Conclusion:** A statistically significant difference was found in the absolute counts of macrophages, lymphocytes and epithelial cells in colostrum from mothers of preterm newborns compared to colostrum from mothers of term newborns.

Keywords: macrophages, lymphocytes, epithelial cells, preterm newborns, term newborns, colostrum.

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| DEDICATORIA..... | ii |
| AGRADECIMIENTOS | ii |
| RESUMEN | iii |
| ABSTRACT | iv |
| ÍNDICE | v |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. PROBLEMA | 5 |
| 1.2. OBJETIVOS | 5 |
| OBJETIVO GENERAL | 5 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 6 |
| 1.3. HIPÓTESIS..... | 6 |
| II. MATERIALES Y MÉTODOS | 7 |
| 2.1. DISEÑO DE ESTUDIO | 7 |
| 2.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO..... | 7 |
| 2.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN..... | 7 |
| 2.4. MUESTRA | 8 |
| 2.5. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES..... | 10 |
| 2.6. PROCEDIMIENTO..... | 13 |
| 2.7. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 14 |
| 2.8. CONSIDERACIONES ÉTICAS | 14 |
| III. RESULTADOS | 16 |
| IV. DISCUSIÓN | 22 |
| V. CONCLUSIONES | 25 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 26 |

| | |
|--|-----------|
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |
| ANEXOS | 31 |

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los factores que afectan el crecimiento inmediato y progresivo, así como al desarrollo de la inmunidad, es la nutrición durante la infancia. La Organización Mundial de la Salud ha indicado que la lactancia materna debe ser exclusiva durante la primera mitad del primer año del infante, continuándose hasta los 24 meses junto a su alimentación complementaria (1,2).

En el transcurso de la historia, se pensaba que la leche materna transmitía inmunidad al lactante en crecimiento sólo en virtud de su contenido de inmunoglobulinas, hoy en día se sabe que la lactancia materna exclusiva es tomada como un elemento que brinda protección contra infecciones, dado que induce la maduración del sistema inmunológico en el neonato, activando al complejo celular inmunitario (incluyendo monocitos, linfocitos T, linfocitos NK, linfocitos B) y humoral; contiene 32 factores solubles y 5 tipos de células originarias de la progenitora, entre los que se encuentran desde glóbulos blancos hasta contenido celular epitelial a lo largo del crecimiento del neonato. La lactancia materna ayuda a la estimulación del aparato gastrointestinal y de las enzimas presentes en él, así como de los huesos en crecimiento del lactante. Los recién nacidos ingieren un aproximado de 10^8 células maternas por día en la leche madura, de las cuales se estima que el 80% son macrófagos, componente celular proveniente de los monocitos del tejido sanguíneo periférico materna(3–10).

En la actualidad, según la tarjeta de Puntuación Mundial para la Lactancia Materna, los niños menores de seis meses reciben leche materna exclusiva en un porcentaje de 40%. En nuestro país, la lactancia materna, llegó a niveles de 63,1% en niñas y niños con una edad menor a los seis meses en la primera mitad del año 2022, 20% menos a lo reportado en el año 2021; el área rural tuvo los mayores porcentajes, correspondiéndoles el 81,0%, en la Sierra se registró un 79,8%, y en los grupos donde la progenitora mantenía un grado educacional primario o menor un 71,4% (11,12).

Los neonatos prematuros se caracterizan por nacer con sistemas corporales poco desarrollados. En el mundo, aproximadamente hay 15 millones de nacimientos prematuros, ellos se enfrentan constantemente a riesgos potenciales para su salud relacionados con sus sistemas inmaduros por lo que se benefician de la lactancia materna. De ellos, especialmente aquellos que tienen una edad menor a las 32 semanas o con una masa corporal menor al estándar, la ingesta temprana del calostro

se relaciona con disminución de la prevalencia de patologías de gran morbilidad y mortalidad, como enterocolitis necrotizante, displasia broncopulmonar, retinopatía del prematuro, entre otras (13–17).

Las causales más importantes de fatalidad en neonatos son las infecciones, esto se debe a la deficiencia de la respuesta inmunológica humoral y celular (ausencia de inmunoglobulinas y de células de defensa). Las células T helper se pueden diferenciar hacia destinos celulares alternativos, esto depende del contexto en el que reciben estimulación antigénica. Estudios han sugerido que los bebés prematuros tienen una respuesta de células linfocíticas helper 2 (Th2) diferente, esta se basa en una mayor producción de interleucina 5 (IL-5), y una disminución de la producción de una interferón gamma (IFN- γ), que es la citocina de T helper 1. Una respuesta de células linfocíticas helper 1 (Th1) efectiva es clave para prevenir infecciones intracelulares, incluidas las bacterias, y esto puede explicar por qué los bebés prematuros tienen una mayor susceptibilidad (18,19).

En las muestras intestinales de bebés a término, en contraste con las de bebés prematuros, las células T helper intestinales tienen tendencia a secretar factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 2 (IL-2) (citocinas de Th1). En un modelo de organoide fetal humano, se demostró que el TNF- α contribuye al crecimiento epitelial intestinal por sus efectos en las células madre intestinales, aunque los altos niveles de TNF- α suprimen el crecimiento epitelial (18,20).

Los mononucleares (sanguíneos) y macrófagos (tisulares) producen citocinas para regular las respuestas inmunitarias. Estas citocinas proinflamatorias (TNF- α , interleucina 6 y 12) provocan respuestas inflamatorias que ayudarán a la lucha contra agentes infecciosos. La IL-6 se encarga de la proliferación y secreción de anticuerpos de las células B, mientras que la IL-12, modula el sistema inmunológico adaptativo diferenciando las células T colaboradoras al subconjunto TH1 (21–23).

Los oligosacáridos contenidos en la leche de la progenitora (OLM), tienen una gran influencia sobre la respuesta de los Th tisulares, éstos comprenden entre el 1 y el 2% de la leche humana. Los OLM no son digeribles por el bebé, pero se cree que modulan la microbiota intestinal. Los OLM parecen promover el crecimiento de bifidobacterias y suprimir organismos potencialmente patógenos (24,25).

Durante el periodo de lactancia, el tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) (ubicado en el compartimento intestinal del neonato), los órganos del sistema respiratorio, el sistema glandular mamario, salival y lacrimal, y los conductos genitourinarios, se desarrollan y se activan. Este sistema (MALT) actúa contra ciertas enfermedades infecciosas y sus antígenos como: E. coli, Salmonella, Campylobacter, Vibrio cholerae, Shigella y G. lamblia (26,27).

Estudios sobre las poblaciones celulares revelan que, de forma automática antes del parto, la leche materna se enriquece con células T CD8 +. Estos hallazgos proponen que las células TCD8 + enriquecidas presentes en la leche materna, incluso después de una posible lisis en el intestino del lactante, puede representar un mecanismo para la transmisión pasiva inmunitaria en dirección madre-hijo (28,29).

Se conoce que los micro y macronutrientes presentes en la leche materna de prematuros y a término no son iguales; la expresión génica y los fenotipos de las células madre también difieren ya que están pobremente caracterizados, en especial en las madres de muy prematuros y extremadamente prematuros (30–33).

La tinción de Papanicolaou (PAP) es un método en el que el núcleo queda teñido, usando como contraste al contenido del citosol. Una de sus ventajas es que permite definir a detalle el núcleo, poniendo en evidencia a la cromatina y la transparencia que posee el citosol, también permite la apreciación de células diferenciadas en todos sus grados, así como el metabolismo de las mismas. Esta coloración presenta varias sustancias colorimétricas en su composición, por lo tanto, puede revelar una gran gamma celular. Todas las propiedades que posee, hacen que sea la mejor opción en la investigación citológica. La técnica de tinción usa tres soluciones diferentes, la hematoxilina, Orange G (solución de Papanicolaou OG) una en la que se combinan los distintos tintes (solución de Papanicolaou EA)(34)(35).

La técnica de muestras coloreadas con PAP tiene ventajas añadidas, entre ellas, la conservación de la citomorfología, gracias a esto, se precisan las características de la membrana nuclear, de la cromatina, y del citoplasma y, de la misma manera, permite la observación de espacios limpios y sucios, la cantidad celular, su distribución ya sea formando placas, rosetas, acumulaciones de alta densidad, distribuciones columnares entre otras. Los macrófagos en la tinción PAP se muestran como células redondeadas con núcleos granulosos arriñonados, con citoplasma

difuso en un fondo claro, propio de la carga de hemosiderina, mientras que los linfocitos se muestran de menor tamaño, con el núcleo cromático ocupando casi toda la superficie celular. Las células epiteliales por su parte, se observan con formas irregulares escamosas con una tenue marca nuclear, generalmente más grandes que las células inmunitarias (36).

Li et al (China, 2019) con el objetivo de identificar los cambios en los componentes celulares de la leche humana a lo largo de las distintas fases de lactancia, y explorar las relaciones de estos cambios con las características maternas y del lactante, realizaron un estudio cohorte en el que se evaluaron las muestras de leche de 30 púerperas pre término y 10 madres de recién nacidos a término. Las muestras de leche se centrifugaron a 805 rpm a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se eliminó la capa de grasa y la leche desnatada líquida, y el sedimento celular se lavó dos veces con solución salina estéril tamponada con fosfato (PBS), y se centrifugó a 805 rpm durante 5 minutos; este paso se repitió dos veces. El sedimento celular lavado se resuspendió en solución salina tamponada con fosfato estéril y se contó en un hemocitómetro. Se determinó que la viabilidad de las células era superior al 95% mediante el test de viabilidad trypan blue exclusion. Los resultados revelaron que, en el calostro, el recuento de células (media = 13×10^5 [rango intercuartil = $8,6 \times 10^5$ - 28×10^5]/ml) fue significativamente más alto que el de la leche de transición (media = $4,7 \times 10^5$ [rango intercuartil = $3,1 \times 10^5$ - $7,2 \times 10^5$]/ml) y la leche madura (media = $3,0 \times 10^5$ [rango intercuartil = $2,1 \times 10^5$ - $4,8 \times 10^5$]/ml), el porcentaje de células CD34 + en el calostro se correlacionó positivamente con la edad gestacional ($\rho = 0,326$; $p = 0,04$), mientras que el porcentaje en la leche de transición se correlacionó negativamente con edad gestacional ($\rho = -0,398$; $p = 0,015$). Concluyendo que el número de células madre hematopoyéticas y células inmunitarias principales en la leche materna cambió dinámicamente en las distintas fases del lactante; y que la leche prematura, la técnica de lactancia y el IMC materno puede afectar el número de algunos tipos de células en la leche materna(5).

A. M. Dawarkadas et al (India, 1991) tuvieron como objetivo demostrar los diferentes factores antiinfecciosos del calostro a través de un estudio de casos (25 madres con neonatos pre término, de 28-36 semanas de gestación) y controles (10 madres con recién nacidos a término, de 38-40 semanas de gestación). Las muestras se recogieron manualmente entre las 24 y 72 horas después del parto. Se separó la

grasa para obtener el suero, el cual se utilizó posteriormente para la cuantificación de proteínas totales a través de la técnica de Biuret; los niveles de células, inmunoglobulinas y lactoferrina se estimaron mediante técnicas de inmunodifusión radial simple. Los resultados del estudio indicaron que el recuento absoluto de células totales, macrófagos, linfocitos y neutrófilos fue significativamente más alto en el calostro prematuro en comparación con el calostro a término ($P < 0.001$). Por lo tanto, se concluyó que el calostro de las puérperas prematuras, aunque en menor cantidad, es más rico en células y agentes antiinfecciosos solubles(37).

N. Jain et al (India, 1991) para determinar la composición celular del calostro (dentro de las 72 horas posteriores al parto) y la leche madura, realizaron un estudio de casos y controles. Se obtuvieron muestras de 20 puérperas con partos pre término (28-36 semanas de gestación) (casos) y 20 madres de recién nacidos a término (37-42 semanas de gestación) (controles). Se hicieron cinco frotis para cada muestra. Uno de ellos se tiñó con la tinción de Giemsa para el recuento diferencial de células, mientras que el resto se utilizó para identificar los subconjuntos de linfocitos (se utilizó la técnica de inmunoperoxidasa). Los hallazgos revelaron que el recuento total medio de células en el calostro prematuro ($9\ 338,5 / \text{mm}^3$) fue significativamente mayor que en el calostro a término ($5\ 594 / \text{mm}^3$) ($p < 0.001$). Además, se identificaron linfocitos B y T, incluidas las células T4 y T8, tanto en la leche materna prematura como en la de término completo. El recuento absoluto de células T, B, T4 y T8 fue significativamente mayor en el calostro prematuro en comparación con el calostro a término, aunque la distribución porcentual relativa de los subconjuntos de linfocitos no mostró diferencias significativas entre los dos grupos(38).

1.1. PROBLEMA

¿Existe diferencia en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos a término y pre término adecuados para la edad gestacional, nacidos en el Hospital Belén de Trujillo?

1.2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe diferencia en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos a término y pretérmino adecuados para la edad gestacional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar los macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos a término y pretérmino adecuados para la edad gestacional.
- Comparar las cantidades promedio de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos a término y pre término adecuados para la edad gestacional.

1.3. HIPÓTESIS

Ho: No existe diferencia en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos a término y pretérmino adecuados para la edad gestacional.

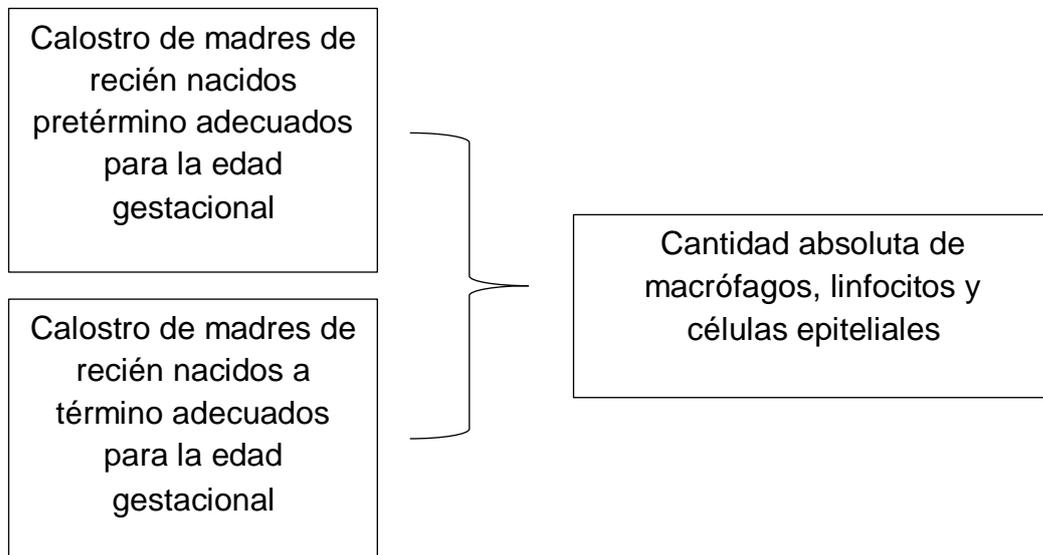
Hi: Si existe diferencia en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos a término y pretérmino adecuados para la edad gestacional.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. DISEÑO DE ESTUDIO

Tipo de estudio: Estudio analítico, observacional de tipo Transversal.

Diseño de estudio:



2.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

- **Población objetivo:** Madres de recién nacidos del Hospital Belén de Trujillo.
- **Población accesible:** Madres de recién nacidos pretérmino y a término del Departamento de Neonatología del Hospital Belén de Trujillo que hayan cumplido con los criterios de selección.

2.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Madres de recién nacidos que se encuentren en sus primeros cinco días de vida.
- Madres eutróficas (IMC= 18.5-24.9 kg/m²).
- Madres con edad entre 18 y 35 años.
- Madres con seis o más controles prenatales.
- Madres con partos a término adecuados para edad gestacional y con parto pretérmino (32-36 semanas) adecuados para edad gestacional.
- Madres que expresen su aceptación a participar del trabajo con la firma del consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Madres que declaren consumo de drogas ilícitas o cualquier tipo de medicación crónica.
- Madres con enfermedades infecciosas, diabetes mellitus gestacional, preeclampsia / eclampsia.
- Madres con enfermedades crónicas y/o autoinmunes.
- Madres que expresan su revocatoria a participar de la investigación.

2.4. MUESTRA

- **UNIDAD DE ANÁLISIS:**

Calostro de madres en los primeros cinco días de lactancia de recién nacidos pre término y a término adecuados para la edad gestacional del Departamento de Neonatología del Hospital Belén de Trujillo.

- **UNIDAD DE MUESTREO:**

Estuvo constituido por las muestras de calostro de las madres de recién nacidos pre término y a término adecuados para la edad gestacional en sus primeros cinco días del Departamento de Neonatología del Hospital Belén de Trujillo.

- **TAMAÑO MUESTRAL**

$$n = \frac{NZ^2PQ}{(N-1)D^2 + Z^2PQ} \quad f = \frac{n}{N} > 0.05$$

Si el factor de corrección mayor del 8% se aplica

$$n_o = \frac{n}{1 + \frac{n}{N}}$$

Resolviendo tenemos:

$$n = \frac{700 * 1.65^2 * 0.5 * 0.5}{(700 - 1)0.08^2 + 1.65^2 * 0.5 * 0.5} = 92$$

$$n_o = \frac{92}{1 + \frac{92}{700}} = 81$$

Donde:

n_o = Tamaño de la muestra final siempre y cuando se exceda el 5%

n = Tamaño de la Muestra preliminar

N = Población ($N=700$)

Z : Valor Asociado a un nivel de confianza. ($Z=1.65$ si es 90% de Confianza)

D = Margen de error (0.08)

P = Probabilidad de ocurrencia Q = Probabilidad de no ocurrencia

De acuerdo a la fórmula, y tomando como población la cantidad de 700, se tuvo como resultado muestral a 92 integrantes. No obstante, aplicando el factor corrector, el número muestral final obtenido fue de 81 participantes, los mismos que se dividieron en 41 madres de recién nacidos a término y 40 madres de recién nacidos prematuros.

2.5. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| VARIABLE INDEPENDIENTE | | | | |
|---|--------------|---------------------------|--|---|
| NOMBRE | TIPO | ESCALA DE MEDICIÓN | INDICADOR | REGISTRO |
| Calostro de madres de recién nacidos pretérmino y a término adecuados para edad gestacional (AEG) | Cualitativa | Nominal, dicotómica | Relación peso/Edad gestacional por historia clínica (clasificación según CLAP) | 0: calostro del neonato pretérmino AEG 1: calostro del neonato a término AEG |
| VARIABLE DEPENDIENTE | | | | |
| NOMBRE | TIPO | ESCALA DE MEDICIÓN | INDICADOR | REGISTRO |
| Cuantificación de células de calostro de las madres de los recién nacidos a término y pre término adecuados para edad gestacional (AEG) | Cuantitativa | Discreta | Conteo absoluto de células en lámina portaobjeto teñida con PAP | -Cantidad absoluta de Macrófagos -Cantidad absoluta de Linfocitos -Cantidad absoluta de Células epiteliales |

| VARIABLES INTERVINIENTES | | | | |
|---------------------------------|--------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|
| NOMBRE | TIPO | ESCALA DE MEDICIÓN | INDICADOR | REGISTRO |
| Edad materna | Cuantitativa | Discreta | DNI | Edad de la madre en años |
| Tipo de parto | Cualitativa | Nominal | Historia Clínica | 0: Cesárea 1: Vaginal. |
| Sexo del recién nacido | Cualitativa | Nominal | Historia Clínica | 0: femenino 1: masculino |
| Procedencia | Cualitativa | Nominal | Historia Clínica y DNI | 0: rural 1: urbana |

DEFINICIONES OPERACIONALES

Variable independiente:

1. Calostro de madres de recién nacidos pre término y a término adecuados para la edad gestacional:

Calostro: leche que las puérperas producen en las primeras 72 horas tras haber ocurrido el parto. Se caracteriza por ser de color amarillenta-clara y de consistencia espesa (39).

Para fines de este estudio se tomó el calostro de madres de recién nacidos a término y pretérmino adecuados para la edad gestacional, cuya definición es la sgte:

-Pretérmino adecuado para la edad gestacional: Recién nacidos antes de las 37 semanas. Para efecto de este trabajo, se incluyeron a los recién nacidos de 32 semanas hasta las 36 semanas de gestación cuyo peso se encuentre entre los percentiles 10 y 90 de las curvas del CLAP, según conste en la historia clínica.

-A término adecuado para la edad gestacional: Producto de la concepción de 37 semanas a 41 semanas tras la gestación cuyo peso se encuentre entre los percentiles 10 y 90 de las curvas del CLAP, según conste en la historia clínica.

Se registrará como 0: calostro del neonato pretérmino y 1: calostro del neonato a término.

Variable dependiente:

1. Cuantificación de macrófagos, linfocitos y células epiteliales:

Recuento absoluto de células encontradas en las muestras de calostro de ambos grupos. El proceso de conteo se realizó dividiendo en campos a las células, y estuvo a cargo del patólogo, por la experiencia requerida.

Variables intervinientes:

1. Edad materna: según datos obtenidos del DNI.

2. Tipo de parto: Según la historia clínica de cada paciente, se registró como 0: cesárea y 1: vaginal.

3. Sexo del recién nacido: Según la historia clínica de cada paciente, se registró como 0: femenino y 1: masculino.

4. Procedencia: Según el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI), se utilizaron dos criterios cualitativos: rural y urbano (40).

- Urbano: áreas con dos mil y más habitantes, donde sus viviendas se encuentran agrupadas en forma contigua, formando manzanas y calles.

- Rural: áreas con menos de dos mil habitantes, donde sus viviendas se encuentran dispersas sin formar bloques o núcleos.

Según la historia clínica de cada paciente, se registró como 0: rural y 1: urbana.

2.6. PROCEDIMIENTO

El presente estudio fue presentado para su análisis y posterior aprobación al Comité de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego. Después de ser aprobado, se requirieron los permisos pertinentes a la autoridad del Hospital Belén de Trujillo para la recolección de muestras de calostro de madres en los primeros 5 días posparto, según criterios de selección y que se encuentren en el Departamento de Neonatología. El muestreo fue realizado siguiendo el esquema del muestreo aleatorio simple; este consistió en introducir en una bolsa dos papeles en donde se escribió número par e impar, y por día, se fue sacando un solo papel, de acuerdo a lo que salía, se fueron tomando las muestras a las madres tomando en cuenta los números de las camas (par o impar, lo que saliera ese día); si ya se le había tomado la muestra anteriormente a la madre, ésta se obviaba. Se tomó la muestra de calostro de 41 madres con niños a término y 40 madres con niños pretérmino, se empezó la recolección de muestras, acudiendo al Hospital Belén de Trujillo, al área de maternidad, se les explicó a las madres el fin del proyecto y si estuvieron de acuerdo, firmaron un consentimiento informado (ver anexo 2). A todas las madres que aceptaron colaborar, se les pidió dos gotas de calostro que fueron colocadas en una lámina porta objetos directamente, con ayuda de otra lámina porta objetos, se realizó el extendido (las láminas estuvieron previamente enumeradas en coincidencia con el número de la hoja de recolección de datos)(ver anexo 1) y se las colocó en alcohol al 96% dentro de vasos de Coplin por un mínimo de tiempo de 20 a 30 minutos. Se trasladaron las muestras (2 horas después de la recolección) en los mismos vasos de Coplin hasta el laboratorio de anatomía patológica QURA ubicado en la calle Los Diamantes 335 urbanización Santa Inés en donde se realizó la coloración PAP, la diferenciación y el conteo celular a cargo del doctor Marcos Oswaldo Capristán Díaz (ver anexo 3), las láminas fueron colocadas en el microscopio para la cuantificación de células, se dividió cada lámina en 10 campos y se observaron las células con un aumento de 40x, mismas que se diferenciaron mediante criterios morfológicos(ver anexo 4):

- **Linfocitos:** Células pequeñas de núcleo redondeado cromático no granulomatoso, el cual abarca casi el 100 % del citoplasma celular.
- **Macrófagos:** Células más grandes que los linfocitos, con núcleo arriñonado excéntrico. El citoplasma es difuso y de aspecto básico.

- **Células epiteliales:** Células de forma irregular con un citoplasma difuso y un núcleo reducido generalmente céntrico.

Aunque no fue un objetivo inicial en nuestro proyecto de investigación; durante la ejecución del mismo pudimos observar que con la coloración PAP era posible también identificar PMN por lo que en los resultados los hemos considerado dada la importancia de estas células por la función presentadora de antígenos y de iniciadora de la respuesta inmunitaria en el organismo. Estos se pueden identificar gracias a que su núcleo presenta una serie de divisiones que convierten la estructura en multilobular unida por hilos de cromatina coloreados. Tiene un núcleo granulado distribuido uniformemente por la estructura nuclear. Se elaboró la base de datos utilizando el paquete estadístico SPSS V 20.0. y se realizó el análisis respectivo.(41)

2.7. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete IBM SPSS Statistics 26.

Estadística descriptiva: Todos los datos se expresaron como promedio \pm desviación estándar (DE), mediana (rango intercuartil) o porcentaje, de acuerdo a su correspondencia.

Estadística analítica: Las proporciones se compararon aplicando la prueba de χ^2 de Pearson, para la media se usó la prueba t de Student y el parámetro U de Mann – Whitney, previa verificación del supuesto de normalidad mediante prueba Kolmogorov-Smirnov, los resultados fueron relevantes si el valor-p de la prueba era menor que 0,05. ($p < 0,05$).

2.8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para el presente estudio, se tomaron en cuenta los principios de ética normados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS). Es resaltante en el presente proyecto el principio de beneficencia, que se conceptualiza como la necesidad imperante de obtener y brindar información respecto al recuento absoluto de macrófagos, células epiteliales y linfocitos, con tinción PAP en el calostro de madres de niños a término y pre término adecuados para la edad gestacional; lo cual contribuye al entendimiento de la mayor vulnerabilidad respecto a las infecciones en los primeros momentos de la vida.

A cada madre se le entregó una hoja en la que se describió el procedimiento de la toma de muestra y consentimiento informado, además se incluyó una revocatoria en caso no deseen participar.

Para el presente trabajo de investigación se tuvo con la autorización del Comité de Investigación y Ética de la Universidad Privada Antenor Orrego y del Hospital Belén de Trujillo; los datos fueron confidenciales, a los cuales solo tuvieron acceso el personal de investigación, manteniendo protegida la identidad y los datos personales de las participantes y de la propia entidad de salud siguiendo los principios 11,14,15 y 22 de la Declaración de Helsinki y la ley general de salud (D.S. 017-2006-SA y D.S. 006-2007-SA)(42,43).

En cuanto se concluya la investigación, el trabajo será sustentado, ratificando y asegurando la no existencia de copias ni plagios. Se adicionaron las bibliografías pertinentes como lo precisa el artículo 48 del Código de Ética y Deontología del CMP(44).

III. RESULTADOS

Prueba de normalidad

Ho: Los datos de las variables provienen de una distribución normal

H1: Los datos de las variables no provienen de una distribución normal

Tabla 1

Normalidad de las variables macrófagos, linfocitos, células epiteliales y polimorfonucleares según edad gestacional.

| Variables | Edad gestacional | Shapiro-Wilk | | |
|---------------------|------------------|--------------|----|-------|
| | | Estadístico | gl | Sig. |
| Macrófagos | A término | 0,903 | 41 | 0,002 |
| | Pretérmino | 0,946 | 40 | 0,056 |
| Linfocitos | A término | 0,925 | 41 | 0,010 |
| | Pretérmino | 0,837 | 40 | 0,000 |
| Células epiteliales | A término | 0,647 | 41 | 0,000 |
| | Pretérmino | 0,813 | 40 | 0,000 |
| Polimorfonucleares | A término | 0,735 | 41 | 0,000 |
| | Pretérmino | 0,964 | 40 | 0,234 |

Nota. Elaboración mediante SPSS

Respecto a los datos expuestos en la tabla 1, y tras la aplicación la prueba de Shapiro-Wilk para las variables según edad gestacional, se obtuvo un p valor menor a 0.05 (nivel de significancia), infiriéndose que la data no sigue una distribución normal. Por esto, para el análisis de independencia se realizó una prueba no paramétrica (U de Mann Whitney).

Tabla 2

Prueba de independencia de macrófagos, linfocitos, células epiteliales y polimorfonucleares según edad gestacional

| Variables | Edad gestacional | N | U de Mann Whitney | P |
|---------------------|------------------|----|-------------------|-------|
| Macrófagos | A término | 41 | | |
| | Pretérmino | 40 | 408,50 | 0,000 |
| Linfocitos | A término | 41 | | |
| | Pretérmino | 40 | 428,50 | 0,000 |
| Células epiteliales | A término | 41 | | |
| | Pretérmino | 40 | 561,50 | 0,013 |
| Polimorfonucleares | A término | 41 | | |
| | Pretérmino | 40 | 81,5 | 0,000 |
| | Total | 81 | | |

Nota. Elaboración mediante SPSS.

Respecto a la información expuesta en la tabla 2, y tras la aplicación de la prueba U de Mann Whitney, los datos muestran que existe diferencia de macrófagos, linfocitos, células epiteliales y polimorfonucleares según edad gestacional, aceptándose la hipótesis alternativa planteada (p valor < 0.05).

Tabla 3

Promedio por lámina de macrófagos, linfocitos, células epiteliales y polimorfonucleares según edad gestacional de todas las láminas analizadas.

| Variables | Edad gestacional | | | | Significancia P |
|---------------------|------------------|----------|------------|----------|--------------------|
| | A Término | | Pretérmino | | |
| | Media (n) | Rango | Media (n) | Rango | |
| Macrófagos | 60 | 45 – 85 | 68 | 45 – 100 | 0,000 |
| Linfocitos | 64 | 40 – 80 | 72 | 55 – 120 | 0,000 |
| Células epiteliales | 6 | 02 – 25 | 6 | 02 – 12 | 0,013 |
| Polimorfonucleares | 75 | 45 – 150 | 181 | 65 - 320 | 0,000 |
| Total | 205 | | 327 | | |

Nota. Elaboración mediante SPSS

En la tabla 3, se presenta el promedio estadísticamente significativo ($p < 0.05$), por lámina, del conteo de cada tipo de célula inmunitaria, diferenciándolos en los 2 grupos: recién nacidos a término y recién nacidos pretérmino. Se observa que la suma de los promedios de los 4 tipos celulares estudiados en RN a término (RNAT) es 205 y en RN pretérmino (RNPT) es 327. Individualmente, el promedio de macrófagos en RNAT es 60 y en RNPT es 68; el promedio de linfocitos en RNAT es 64 y en RNPT es 72; el promedio de células epiteliales en RNAT es 6 y en RNPT es 6 y el promedio de PMN en RNAT y RNPT es 75 y 181 respectivamente. Esto último evidencia que los PMN son la línea celular que predomina en el calostro tanto de RNAT, como de RNPT de la muestra estudiada.

Tabla 4

Promedio por lámina de totalidad celular según edad gestacional y variables intervinientes del total de láminas analizadas.

| Variables | TOTAL | | |
|--------------------|-----------|------------|---------------|
| | A término | Pretérmino | Significancia |
| | Media | Media | P |
| Edad | | | |
| 18-25 | 208 | 345 | <0,001 |
| 26-35 | 200 | 316 | <0,001 |
| Procedencia | | | |
| Rural | 207 | 319 | <0,001 |
| Urbana | 203 | 334 | <0,001 |
| Sexo RN | | | |
| F | 197 | 320 | <0,001 |
| M | 208 | 329 | <0,001 |
| Tipo parto | | | |
| Cesárea | 201 | 306 | <0,001 |
| Vaginal | 211 | 407 | <0,001 |

Nota. Elaboración mediante SPSS

En la tabla 4 se presenta el promedio significativamente estadístico ($p < 0.05$) del conteo total de células inmunitarias de cada lámina de calostro, analizada según la edad gestacional y las 4 variables intervinientes, observándose que: en RNAT, cuyas madres tenían entre 18 y 25 años de edad fue 208 y en los RNPT, 345; en RNAT, cuyas madres tenían entre 26 y 35 años de edad fue 200 y en los RNPT, 316; en RNAT, cuya madre proviene de la zona rural fue 207 y en los RNPT, 319; en RNAT, cuya madre proviene de la zona urbana fue 203 y en los RNPT, 334; en RNAT de sexo femenino fue 197 y en las RNPT, 320; en RNAT de sexo masculino fue 208 y en los RNPT, 329; en RNAT nacidos por cesárea fue 201 y en los RNPT, 306; en RNAT nacidos por parto vaginal fue 211 y en los RNPT, 407. Evidenciándose que, en todas las variables intervinientes, el promedio del recuento celular total es mayor en los RNPT.

Tabla 5

Promedio por lámina de macrófagos, linfocitos, células epiteliales y polimorfonucleares según edad gestacional y variables intervinientes de todas las láminas analizadas.

| Variables | Macrófagos | | | Linfocitos | | | Células epiteliales | | | PMN | | |
|--------------------|------------|-------------|--------|------------|-------------|--------|---------------------|-------------|-------|-----------|-------------|--------|
| | A término | Pre término | Sig. | A término | Pre término | Sig. | A término | Pre término | Sig. | A término | Pre término | Sig. |
| | Media | Media | P | Media | Media | P | Media | Media | P | Media | Media | P |
| Edad | | | | | | | | | | | | |
| 18-25 | 60 | 69 | 0,018 | 65 | 72 | 0,161 | 6 | 7 | 0,045 | 78 | 197 | <0,001 |
| 26-35 | 60 | 67 | 0,002 | 63 | 72 | <0,001 | 5 | 6 | 0,176 | 72 | 172 | <0,001 |
| Procedencia | | | | | | | | | | | | |
| Rural | 61 | 64 | 0,263 | 66 | 68 | 0,568 | 5 | 7 | 0,013 | 76 | 181 | <0,001 |
| Urbana | 60 | 71 | <0,001 | 63 | 76 | <0,001 | 6 | 6 | 0,178 | 75 | 181 | <0,001 |
| Sexo RN | | | | | | | | | | | | |
| F | 57 | 68 | 0,01 | 64 | 73 | 0,153 | 5 | 5 | 0,084 | 70 | 174 | <0,001 |
| M | 61 | 67 | 0,004 | 64 | 72 | <0,001 | 6 | 7 | 0,056 | 77 | 183 | <0,001 |
| Tipo parto | | | | | | | | | | | | |
| Cesárea | 60 | 66 | 0,005 | 62 | 72 | <0,001 | 6 | 7 | 0,041 | 74 | 162 | <0,001 |
| Vaginal | 60 | 72 | 0,002 | 68 | 74 | 0,084 | 5 | 5 | 0,17 | 78 | 257 | <0,001 |

Nota. Elaboración mediante SPSS

En la tabla 5 se presenta el promedio del conteo celular para cada estirpe estudiada, en relación a la edad gestacional y las 4 variables intervinientes, obteniéndose los siguientes resultados: *el promedio de macrófagos* en RNAT cuyas madres tenían entre 18 y 25 años fue 60 y en los RNPT, 69 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres tenían entre 26 y 35 años fue 60 y en los RNPT, 67 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona rural fue 61 y en los RNPT, 64 ($p > 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona urbana fue 60 y en los RNPT, 71 ($p < 0.05$); en RNAT de sexo femenino fue 57 y en las RNPT, 68 ($p < 0.05$); en RNAT de sexo masculino fue 61 y en los RNPT, 67 ($p < 0.05$); en RNAT nacidos por cesárea fue 60 y en los RNPT, 66 ($p < 0.05$); en RNAT nacidos por parto vaginal fue 60 y en los RNPT, 72 ($p < 0.05$).

Referente al promedio de linfocitos, en RNAT cuyas madres tenían entre 18 y 25 años fue 65 y en los RNPT, 72 ($p > 0.05$); en RNAT cuyas madres tenían entre 26 y 35 años fue 63 y en los RNPT, 72 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona rural fue 66 y en los RNPT, 68 ($p > 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona urbana fue 63 y en los RNPT, 76 ($p < 0.05$); en RNAT de sexo femenino fue 64 y en las RNPT, 73 ($p > 0.05$); en RNAT de sexo masculino fue 64 y en los RNPT, 72 ($p < 0.05$); en RNAT nacidos por cesárea fue 62 y en los RNPT, 72 ($p < 0.05$); en RNAT nacidos por parto vaginal fue 68 y en los RNPT, 74 ($p > 0.05$).

Referente al promedio de células epiteliales, en RNAT cuyas madres tenían entre 18 y 25 años fue 6 y en los RNPT, 7 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres tenían entre 26 y 35 años fue 5 y en los RNPT, 6 ($p > 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona rural fue 5 y en los RNPT, 7 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona urbana fue 6 y en los RNPT, 6 ($p > 0.05$); en RNAT de sexo femenino fue 5 y en las RNPT, 5 ($p > 0.05$); en RNAT de sexo masculino fue 6 y en los RNPT, 7 ($p > 0.05$); en RNAT nacidos por cesárea fue 6 y en los RNPT, 7 ($p < 0.05$); en RNAT nacidos por parto vaginal fue 5 y en los RNPT, 5 ($p > 0.05$).

Referente al promedio de PMN, en RNAT cuyas madres tenían entre 18 y 25 años fue 78 y en los RNPT, 197 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres tenían entre 26 y 35 años fue 72 y en los RNPT, 172 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona rural fue 76 y en los RNPT, 181 ($p < 0.05$); en RNAT cuyas madres provenían de la zona urbana fue 75 y en los RNPT, 181 ($p < 0.05$); en RNAT de sexo femenino fue 70 y en las RNPT, 174 ($p < 0.05$); en RNAT de sexo masculino fue 77 y en los RNPT, 183 ($p < 0.05$); en RNAT nacidos por cesárea fue 74 y en los RNPT, 162 ($p < 0.05$); en RNAT nacidos por parto vaginal fue 78 y en los RNPT, 257 ($p < 0.05$).

Se evidencia que el promedio del conteo celular para cada línea estudiada es igual o mayor en los RNPT que en los RNAT y muestra significancia estadística ($p < 0.05$) en su relación con la mayoría de las variables intervinientes.

IV. DISCUSIÓN

La leche materna se encuentra compuesta por gran cantidad de nutrientes, proteínas, enzimas y otros componentes celulares que son esenciales para la defensa del neonato ante potenciales patógenos, extendiéndose desde el propio nacimiento y a lo largo de los meses en los que el recién nacido crece. El calostro por su parte, es el primer alimento recibido por el neonato, el cual es una variante más amarillenta debido a las altas concentraciones de nutrientes, anticuerpos y células que tiene, así como la presencia de carotenoides. Estudios propuestos anteriormente postulan la presencia de un mayor recuento celular en el calostro de aquellas madres que presentan parto pretérmino (45–47).

En la presente investigación, se ha observado que existe una diferencia estadísticamente relevante entre la presencia y recuento de macrófagos, linfocitos, polimorfonucleares y células epiteliales en el calostro de madres con parto pretérmino y el de madres con parto a término, siendo en el primer grupo mucho mayor que en el segundo grupo. La importancia de esta información radica en que se confirma la capacidad que tiene el cuerpo de generar gran cantidad de células inmunitarias ante partos pretérmino, considerando que, al tener un menor periodo de gestación, el neonato se encuentra mucho más expuesto a cualquier infección causada por otros patógenos, por lo que la estimulación de los linajes celulares inmunes como de proteínas inmunitarias en la leche materna son imprescindibles, dado que es la primera fuente de alimento que recibe el neonato. El calostro producido por madres con partos prematuros es fuente rica en células inmunitarias, por lo que es necesario que no se le exonere de este alimento y se le provea prontamente.

Asimismo, los resultados de esta investigación son similares a los de la investigación realizada por Li et al., quienes encontraron una diferencia significativa entre el recuento de células hematopoyéticas y células del sistema inmune en el calostro, leche de transición y leche madura, siendo mayor en el calostro, y reduciéndose mientras más madura se encuentra la leche, y principalmente cuando el calostro era de madres con parto prematuro (5). La leche materna conforme pasa los meses, va reduciendo su carga celular inmunitaria, esto debido a que este grupo celular empieza a desarrollarse en el neonato, que se complementa con los anticuerpos y otras

moléculas de identificación y defensa proporcionados por la madre. Este cambio causa que este grupo de recién nacidos sean mucho más susceptibles a los patógenos externos (18,19,45), razón por la que la madre induce la producción de una mayor cantidad de anticuerpos y células del grupo inmunológico como linfocitos, macrófagos y polimorfonucleares (PMN), los mismos que son enviados al menor en el calostro y en la posterior leche materna madura.

Adicionalmente, los hallazgos encontrados en la presente investigación tienen semejanza a lo señalado por Dawarkadas et al., quienes indicaron que el recuento celular de linfocitos, macrófagos y neutrófilos fue mucho mayor en el calostro de puérperas con partos pretérminos, a diferencia de aquellos partos que eran a término (37); así como con el estudio de Jain et al., quienes manifestaron encontrar un mayor recuento celular total en el calostro de partos pretérmino a diferencia de los partos a término (38). Los linfocitos en la sangre que suelen presentarse son aquellos de la línea T y B, aunque son los B los más estudiados. Estas células brindan inmunidad a corto plazo, y va a variar conforme las líneas celulares inmunológicas se van desarrollando en el neonato. En el caso de los macrófagos, estos son importantes para la defensa en contra de los patógenos, transportando inmunoglobulinas principalmente en el calostro. Asimismo, se encargan de producir factores de crecimiento celular que estimulan al crecimiento y desarrollo de los epitelios intestinales y a la futura producción de enzimas digestivas que permitirán digerir compuestos más complejos. Respecto a los neonatos prematuros, el epitelio intestinal se encuentra pobremente desarrollado, siendo esta una probable causa de la cantidad elevada de macrófagos en el calostro de madres con parto pretérmino. Por otro lado, en el caso de los PMN, estos predominan en el calostro, principalmente cuando una gestante se acerca a fechas del parto. Conforme pasa el tiempo, esta carga celular disminuye, siendo compensada con mayor producción de leche, dando razón al incremento de células PMN en el calostro de puérperas con partos prematuros (48).

Respecto al primer objetivo específico, en el presente estudio se reportó que, tanto en el calostro de madres con parto pretérmino como en parto a término, había presencia de linfocitos, PMN, células epiteliales y macrófagos. Estos hallazgos son semejantes a los reportados por Li et al., quienes reportaron la presencia de linfocitos en proporción a la edad gestacional de la madre (ya sea en partos pretérmino como

los a término). Además, indicaron que el contenido celular varía a lo largo el tiempo, disminuyendo progresivamente mientras el recién nacido va creciendo (5,48). De la misma manera, se parecen a los señalados por Jain et al., quienes encontraron las mismas líneas celulares en madres tanto prematuras como aquellas con partos a término. En el caso de los linfocitos, los más reportados fueron los de la línea T (T4 y T8) y B, sobre todo en puérperas con partos pretérmino (38). Los infantes que nacen prematuramente son más susceptibles a infecciones por patógenos respecto a los nacidos a término, por lo que requieren una mayor inmunidad (48).

Por otro lado, respecto al segundo objetivo específico, en el presente estudio se reportaron diferencias en el recuento celular entre partos pretérminos y a término en los linfocitos, macrófagos y células epiteliales en el promedio de toda la lámina. En el caso de los PMN, la diferencia de medias es muy significativa (por más de 100). La presencia de PMN es abundante en el calostro de las madres, incluso antes del parto, el cual se va reduciendo conforme pasa el tiempo y la leche madura (48,49). Estos hallazgos confirman lo reportado por Li et al., y con los indicados por Jain et al., quienes afirmaron que las medias en el recuento celular eran más abundantes en el calostro de mujeres con parto prematuro (37,38). Cada uno de los grupos celulares contribuyen a la defensa del neonato, evitando infecciones potenciales que pongan en peligro su vida (50).

La principal limitación en el presente estudio fue que el recuento de células se hizo a través de procesos microscópicos, los cuales permiten ver las células presentes en la leche materna, pero no su viabilidad, sumándole que no se continuó la evaluación de los neonatos por más tiempo para determinar si hubo significancia clínica en comparación a la cantidad celular que arrojó el conteo. Asimismo, se puede caer en el sesgo al momento del recuento celular, dado que puede haber una diferencia celular causada por cualquier microtrauma, lesión o laceración en el interior/exterior de la mama, lo que inmunológicamente incrementaría la presencia de células inmunitarias. Cada uno de estos procesos inflamatorios tienen un periodo estimado de 7 días, y la recolección de la muestra se ha dado en los primeros 5 días de ocurrido el parto, por lo que puede haber influido en los datos recolectados. Por otro lado, la revisión microscópica celular no puede mostrar la presencia de inmunoglobulinas y otras moléculas inmunitarias, tal como sí lo haría la inmunohistoquímica.

V. CONCLUSIONES

Existe diferencia estadísticamente significativa en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos, polimorfonucleares y células epiteliales del calostro de madres de recién nacidos pretérmino y a término adecuados para la edad gestacional.

La media del recuento celular de macrófagos, linfocitos, células epiteliales y polimorfonucleares fue mayor en el calostro de madres de recién nacidos pretérmino que en el calostro de madres de recién nacidos a término adecuados para la edad gestacional, con mayor diferencia en los polimorfonucleares.

VI. RECOMENDACIONES

Los establecimientos donde se atienden partos deben procurar la lactancia materna precoz en el recién nacido a término y pretérmino dadas sus múltiples ventajas, entre ellas, la transferencia de células inmunes. De no estar indicada la vía oral por problemas de salud, la calostroterapia será una buena alternativa.

Realizar estudios en la misma línea de investigación prospectivos, que tomen como muestra evaluada al calostro y a la leche materna hasta el fin de la lactancia, para observar si estas diferencias entre puérperas con parto pretérmino y a término se mantienen a lo largo del tiempo.

Estudiar la leche materna bajo otros análisis que sean capaces de identificar otros componentes celulares y moleculares que pertenezcan a los sistemas de inmunidad celular y humoral.

Diseñar estudios que permitan determinar si las diferencias numéricas y estadísticas reportadas en el presente estudio implican una diferencia clínicamente significativa.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gómez Gallego C, Pérez Conesa D, Bernal Cava MJ, Periago Castón MJ, Ros Berrueto G. Compuestos funcionales de la leche materna. *Enferm Glob.* junio de 2009;(16):0-0.
2. Li C, Solomons NW, Scott ME, Koski KG. Minerals and Trace Elements in Human Breast Milk Are Associated with Guatemalan Infant Anthropometric Outcomes within the First 6 Months. *J Nutr.* octubre de 2016;146(10):2067-74.
3. A consideration of colostrum and milk as sources of antibodies which may be transferred to the newborn baby - PubMed [Internet]. [citado 21 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13509739/>
4. Netzer-Tomkins H, Rubin L, Ephros M. Breastfeeding Is Associated with Decreased Hospitalization for Neonatal Fever. *Breastfeed Med.* 12 de abril de 2016;11(5):218-21.
5. Li S, Zhang L, Zhou Q, Jiang S, Yang Y, Cao Y. Characterization of Stem Cells and Immune Cells in Preterm and Term Mother's Milk. *J Hum Lact Off J Int Lact Consult Assoc.* agosto de 2019;35(3):528-34.
6. Sandoval MIC, Peña HGD, Gallegos EMS, Ledezma JCR. Los beneficios conocidos de la lactancia materna exclusiva en la prevención de enfermedades transmisibles no tienen el impacto positivo esperado. *J Negat No Posit Results.* 12 de abril de 2017;2(6):260-3.
7. Bar S, Milanaik R, Adesman A. Long-term neurodevelopmental benefits of breastfeeding. *Curr Opin Pediatr.* agosto de 2016;28(4):559-66.
8. Witkowska-Zimny M, Kaminska-El-Hassan E. Cells of human breast milk. *Cell Mol Biol Lett.* 2017;22:11.
9. Brunser O, Brunser O. Avances en el conocimiento de las proteínas de la leche materna. *Rev Chil Pediatría.* abril de 2018;89(2):261-9.
10. Yu JC, Khodadadi H, Malik A, Davidson B, Salles É da SL, Bhatia J, et al. Innate Immunity of Neonates and Infants. *Front Immunol* [Internet]. 30 de julio de 2018 [citado 21 de marzo de 2021];9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6077196/>
11. Instituto Nacional de Estadística. Encuesta demográfica y de salud familiar [Internet]. Perú: Instituto Nacional de Estadística e Informática; 2022. Disponible en: https://proyectos.inei.gob.pe/endes/2022/ppr/Presentacion_PPR_I_Semestre_2022.pdf
12. UNICEF. "El Perú debe reforzar la lactancia materna frente a la crisis alimentaria global" [Internet]. UNICEF para cada infancia. 2022 [citado 20 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.unicef.org/peru/comunicados-prensa/peru-debe-reforzar-lactancia-materna-frente-crisis-alimentaria-global>

13. Hurst NM. The 3 M's of breast-feeding the preterm infant. *J Perinat Neonatal Nurs.* septiembre de 2007;21(3):234-9; quiz 240-1.
14. Briere CE, McGrath JM, Jensen T, Matson A, Finck C. Breast Milk Stem Cells: Current Science and Implications for Preterm Infants. *Adv Neonatal Care Off J Natl Assoc Neonatal Nurses.* diciembre de 2016;16(6):410-9.
15. Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* marzo de 2012;129(3):e827-841.
16. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Wright LL, Langer JC, et al. Beneficial effects of breast milk in the neonatal intensive care unit on the developmental outcome of extremely low birth weight infants at 18 months of age. *Pediatrics.* julio de 2006;118(1):e115-123.
17. Gasque-Góngora JJ. Revisión y actualización de enterocolitis necrosante. :11.
18. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine.* julio de 2015;74(1):5-17.
19. Dirix V, Vermeulen F, Mascart F. Maturation of CD4+ regulatory T lymphocytes and of cytokine secretions in infants born prematurely. *J Clin Immunol.* agosto de 2013;33(6):1126-33.
20. Schreurs RRCE, Baumdick ME, Sagebiel AF, Kaufmann M, Mokry M, Klarenbeek PL, et al. Human Fetal TNF- α -Cytokine-Producing CD4+ Effector Memory T Cells Promote Intestinal Development and Mediate Inflammation Early in Life. *Immunity.* 19 de febrero de 2019;50(2):462-476.e8.
21. Morhardt TL, Hayashi A, Ochi T, Quirós M, Kitamoto S, Nagao-Kitamoto H, et al. IL-10 produced by macrophages regulates epithelial integrity in the small intestine. *Sci Rep.* 4 de febrero de 2019;9(1):1223.
22. Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in Inflammatory Disease. *Int J Mol Sci* [Internet]. 28 de noviembre de 2019 [citado 21 de marzo de 2021];20(23). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6929211/>
23. Demers-Mathieu V, Huston RK, Dallas DC. Cytokine Expression by Human Macrophage-Like Cells Derived from the Monocytic Cell Line THP-1 Differs between Treatment with Milk from Preterm- and Term-Delivering Mothers and Pasteurized Donor Milk. *Molecules* [Internet]. 20 de mayo de 2020 [citado 20 de marzo de 2021];25(10). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7287623/>
24. Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology.* septiembre de 2012;22(9):1147-62.
25. Gonia S, Tuepker M, Heisel T, Autran C, Bode L, Gale CA. Human Milk Oligosaccharides Inhibit *Candida albicans* Invasion of Human Premature Intestinal Epithelial Cells. *J Nutr.* septiembre de 2015;145(9):1992-8.

26. Aguilar Cordero MJ, Baena García L, Sánchez López AM, Guisado Barrilao R, Hermoso Rodríguez E, Mur Villar N. Beneficios inmunológicos de la leche humana para la madre y el niño: revisión sistemática. *Nutr Hosp.* abril de 2016;33(2):482-93.
27. Lawrence RM, Pane CA. Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* enero de 2007;37(1):7-36.
28. Ogawa S, Okutani M, Tsukahara T, Nakanishi N, Kato Y, Fukuta K, et al. Comparison of gene expression profiles of T cells in porcine colostrum and peripheral blood. *Am J Vet Res.* 31 de agosto de 2016;77(9):961-8.
29. Calixto-González R, González-Jiménez MA, Bouchan-Valencia P. Importancia clínica de la leche materna y transferencia de células inmunológicas al neonato. *Perinatol Reprod Hum.* :6.
30. China Jimémez B, Awad Parada Y, Villarino Marín A, Sáenz de Pipaón Marcos M. Beneficios a corto, medio y largo plazo de la ingesta de leche humana en recién nacidos de muy bajo peso. *Nutr Hosp.* octubre de 2017;34(5):1059-66.
31. Salazar S, Chávez M, Delgado X, Eudis Rubio TP. Lactancia materna. *Arch Venez Pueric Pediatría.* diciembre de 2009;72(4):163-6.
32. Twigger AJ, Hepworth AR, Tat Lai C, Chetwynd E, Stuebe AM, Blancafort P, et al. Gene expression in breastmilk cells is associated with maternal and infant characteristics. *Sci Rep [Internet].* 10 de agosto de 2015 [citado 20 de marzo de 2021];5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542700/>
33. Staude B, Oehmke F, Lauer T, Behnke J, Göpel W, Schloter M, et al. The Microbiome and Preterm Birth: A Change in Paradigm with Profound Implications for Pathophysiologic Concepts and Novel Therapeutic Strategies. *BioMed Res Int [Internet].* 2 de octubre de 2018 [citado 20 de marzo de 2021];2018. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6189679/>
34. Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical. En: primera. 2006.
35. CEIVD14_es.pdf [Internet]. [citado 30 de enero de 2022]. Disponible en: https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD14/es/CEIVD14_es.pdf
36. 10.pdf [Internet]. [citado 30 de enero de 2022]. Disponible en: <http://www.conganat.org/seap/revista/v31-n1/10.pdf>
37. Dawarkadas AM, Saha K, Mathur NB. A comparative study of cells and anti-microbial proteins in colostrum of mothers delivering pre- and full-term babies. *J Trop Pediatr.* octubre de 1991;37(5):214-9.
38. Cellular Composition Including Lymphocyte Subsets in Preterm and Full Term Human Colostrum and Milk - JAIN - 1991 - *Acta Paediatrica* - Wiley Online

- Library [Internet]. [citado 22 de marzo de 2021]. Disponible en:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1651-2227.1991.tb11872.x>
39. bc_participants_manual_es.pdf [Internet]. [citado 28 de enero de 2022].
Disponible en:
https://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/pdfs/bc_participants_manual_es.pdf
40. cap01.pdf [Internet]. [citado 28 de enero de 2022]. Disponible en:
https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1661/cap01.pdf
37. Dra. Himelda Chávez Torres. Documento Técnico: “PROCEDIMIENTOS DE CITOLOGÍA CERVICAL EN ESSALUD”. Perú. 2018
42. declaracion_helsinki.pdf [Internet]. [citado 15 de abril de 2021]. Disponible en:
https://medicina.udd.cl/centro-bioetica/files/2010/10/declaracion_helsinki.pdf
43. LEY N° 26842 – LEY GENERAL DE SALUD. :27.
44. Cabanillas DPO, Cabrera DAP. COMISIÓN DE ALTO NIVEL DE ASESORÍA TÉCNICA Qué elaboró el Proyecto de modificación del Código de Ética y Deontología. :17.
45. Donovan SM. Human Milk Proteins: Composition and Physiological Significance. Nestle Nutr Inst Workshop Ser. 2019;90:93-101.
46. Graciliano NG, Tenório MCS, Fragoso MBT, Moura FA, Botelho RM, Tanabe ELL, et al. The impact on colostrum oxidative stress, cytokines, and immune cells composition after SARS-CoV-2 infection during pregnancy. Front Immunol. 2022;13:1031248.
47. Kim YJ. Immunomodulatory Effects of Human Colostrum and Milk. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr. julio de 2021;24(4):337-45.
48. Aviles DAR, Rivera MKB, Arreaga L del PT, Villavicencio AFM. Beneficios inmunológicos de la leche materna. RECIAMUC. 1 de febrero de 2020;4(1):93-104.
49. Fernández L, Pannaraj PS, Rautava S, Rodríguez JM. The Microbiota of the Human Mammary Ecosystem. Front Cell Infect Microbiol. 2020;10:586667.
50. Demattio L, Wehrend A. [Occurrence and importance of colostrum leukocytes]. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. febrero de 2020;48(1):35-44.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha de recolección de datos

Hoja Número:

.....

Hoja de recolección de datos:

Trabajo de Investigación: “Recuento absoluto de macrófagos, células epiteliales y linfocitos, con tinción Papanicolaou en el calostro de madres de recién nacidos a término y pre-término en el Hospital Belén de Trujillo.”

I. Del recién nacido:

Nombres y Apellidos:

Sexo: M () F ()

Edad gestacional.....semanas

A término – AEG ()

Pretérmino – AEG ()

II. De la madre:

Nombres y Apellidos:

DNI:

Edad materna:años

Tipo de parto: cesárea () vaginal ()

Procedencia: urbana () rural ()

Peso..... Talla..... IMC:

III. Del calostro:

| Células | Recuento absoluto por 10 campos microscópicos |
|---------------------|---|
| Macrófagos | |
| Linfocitos | |
| Células epiteliales | |
| Total | |

Anexo 2: Consentimiento informado

Consentimiento informado

Yo _____, con DNI _____ declaro que he sido informada e invitada a participar en una investigación denominada “Recuento de macrófagos, células epiteliales y linfocitos en calostro materno de neonatos a término y pre término. Hospital Belén de Trujillo”. Entiendo que este estudio busca determinar si existe diferencia en el recuento absoluto de macrófagos, linfocitos y células epiteliales del calostro de madres de niños a término y pretérmino que se llevará a cabo en el Departamento de Neonatología del Hospital Belén de Trujillo, entiendo que mi participación es fundamental para llevar a cabo la investigación. Colaboraré con la donación de dos gotas de calostro; así mismo me han explicado que la información registrada será confidencial, y que los nombres de los participantes serán asociados a un número de serie.

Estoy en conocimiento que los datos del estudio de mi muestra podré conocerlos si los requiero y que no existirá retribución económica o de otra índole por mi participación. Tengo conocimiento que la presente investigación contribuirá a profundizar en el estudio de la lactancia materna y los beneficios inmunológicos para los bebés.

Asimismo, sé que puedo negar la participación, sin expresión de causa ni consecuencias negativas para mí.

En señal de conformidad, sí acepto voluntariamente participar en este estudio y declaro haber recibido una copia del presente documento.

Nombre y Apellidos..... Firma:

Fecha:

Revocatoria a participación:

Por la presente firma declaro mi negativa a participar del estudio:

Nombre y Apellidos..... Firma:

Fecha:

Anexo 3: Instrucciones para la coloración PAP

Coloración PAP(41)

1. Rotular las láminas de acuerdo al número asignado usando un lápiz punta de diamante.
2. Sumergir las láminas en alcohol al 96% (retirar exceso de fijación).
3. Pasar la canastilla con láminas por agua corriente hasta que esta aclare, luego dejar escurrir (hidratación).
4. Sumergir las láminas en Hematoxilina.
5. Pasar la canastilla con láminas por agua corriente hasta que esta aclare, luego dejar escurrir.
6. Sumergir las láminas en agua ácida o alcohol ácido.
7. Sumergir las láminas en agua amoniacal o carbonato de litio.
8. Sumergir la canastilla con láminas en alcohol al 96%.
9. Sumergir la canastilla en Orange G y dejar escurrir.
10. Sumergir la canastilla con láminas en etanol al 96%.
11. Sumergir la canastilla con láminas en alcohol al 96%.
12. Sumergir la canastilla en EA 36 o EA 50 y dejar escurrir.
13. Sumergir la canastilla con láminas en alcohol al 96% (realizar el procedimiento dos veces consecutivas).
15. Sumergir la canastilla con láminas en alcohol etílico absoluto (realizar el procedimiento dos veces consecutivas).
17. Sumergir la canastilla en xilol o sustituto de xilol, y escurrir el excedente (realizar el procedimiento tres veces consecutivas).

Anexo 4: Imágenes de láminas en diferentes aumentos, tanto de pretérmino como de a término.

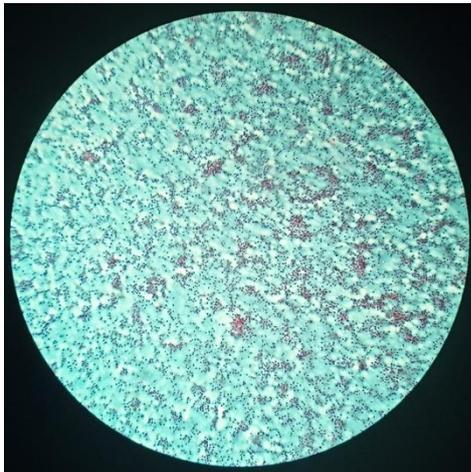


Fig.1: Extendido con celularidad abundante visto a 40x, correspondiente a la lámina 75 que pertenece a una muestra de calostro de pretérmino.

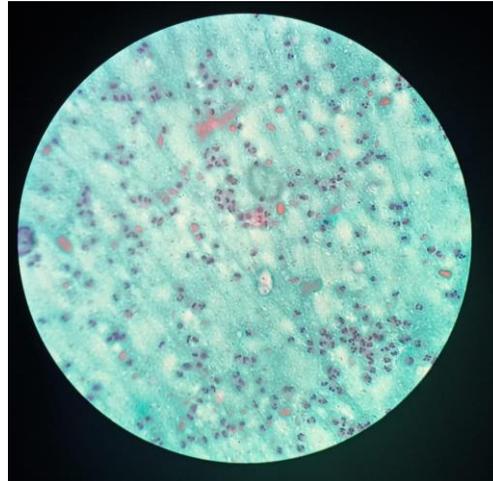


Fig.2: Extendido de lámina 74, a mayor aumento.



Fig.3: Extendido de lámina número 73 a mayor aumento, flechas rojas: PMN, flechas amarillas: macrófagos y flechas azules: linfocitos.



Fig.4: Extendido con escasa celularidad, perteneciente a la lámina 52 de calostro a término.