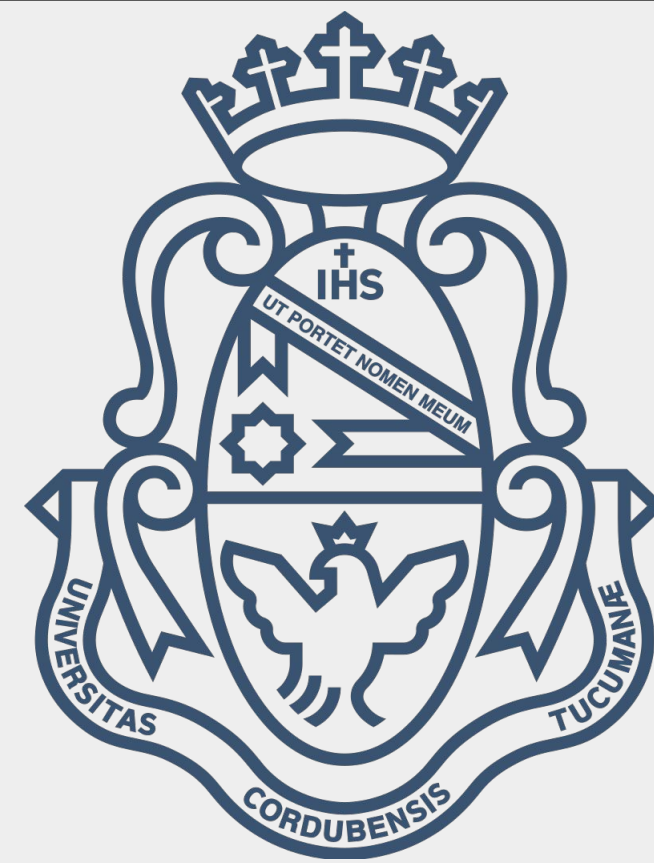




# Cambios celulares en la leche humana en función de la ingesta materna de polifenoles identificados mediante regresión bayesiana



Ana Veronica Scotta<sup>1,2</sup>; Agustín Ramiro Miranda<sup>3</sup>; Mariela Valentina Cortez<sup>1,2</sup>; Elio Andrés Soria<sup>1,2</sup>

1. Facultad de Ciencias Médicas (Universidad Nacional de Córdoba); 2. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CONICET - UNC); 3. Montpellier Interdisciplinary Center on Sustainable Agri-food Systems (MoISA), Universidad de Montpellier, CIRAD, CIHEAM-IAMM, INRAE, Institut Agro, IRD.

**Introducción:** Los polifenoles son un grupo heterogéneo de fitoquímicos presentes en la dieta con potencial bioactivo<sup>1</sup>, capaces así de modificar la composición de la leche humana (LH) al ser ingeridos en la dieta materna<sup>2</sup>. Sin embargo, el estudio multivariado de su impacto sobre la celularidad láctea es limitado con los enfoques metodológicos actuales.

**Objetivo:** Evaluar biomarcadores de celularidad en LH madura en función de la ingesta de polifenoles con potencial bioactivo en mujeres de la provincia de Córdoba (años 2017-2018).

**Metodología:** La ingesta diaria de polifenoles se estimó con la base Phenol-Explorer v.3.3.2 El conteo leucocitario se realizó mediante citometría automatizada. La viabilidad celular se determinó midiendo *ex vivo* el potencial mitocondrial por espectrofluorometría (Em.504nm/Ex.482nm) marcado con yoduro de DIOC6(3)<sup>3</sup> y metabolización de resazurina (600 nm)<sup>4</sup>. Se realizaron modelos de regresión lineal bayesiana entre el consumo de polifenoles de potencial bioactivo<sup>1</sup> y dichas variables en 37 muestras de LH. Se seleccionaron índices de dieta materna como variables de ajuste mínimo suficiente<sup>5</sup>, según la construcción de grafos dirigidos acíclicos<sup>6</sup> (Figura 1). Por el tamaño muestral reducido se utilizaron distribuciones *a priori* informativas para los coeficientes de regresión N(10,30), y no informativas para la varianza: igamma(0.01,0.01) o distribución de Jeffreys. Se realizaron 120000 iteraciones de MCMC mediante algoritmo de MH, con una coda de 100000 iteraciones y un thinning de 100 para disminuir la autocorrelación. Se evaluó eficiencia, tamaño muestral efectivo (ESS) y gráficos de convergencia de los modelos<sup>7</sup>. Se obtuvieron así  $\beta$  medio e intervalo de credibilidad simétrico (IC) 95%, con el programa STATA 17.

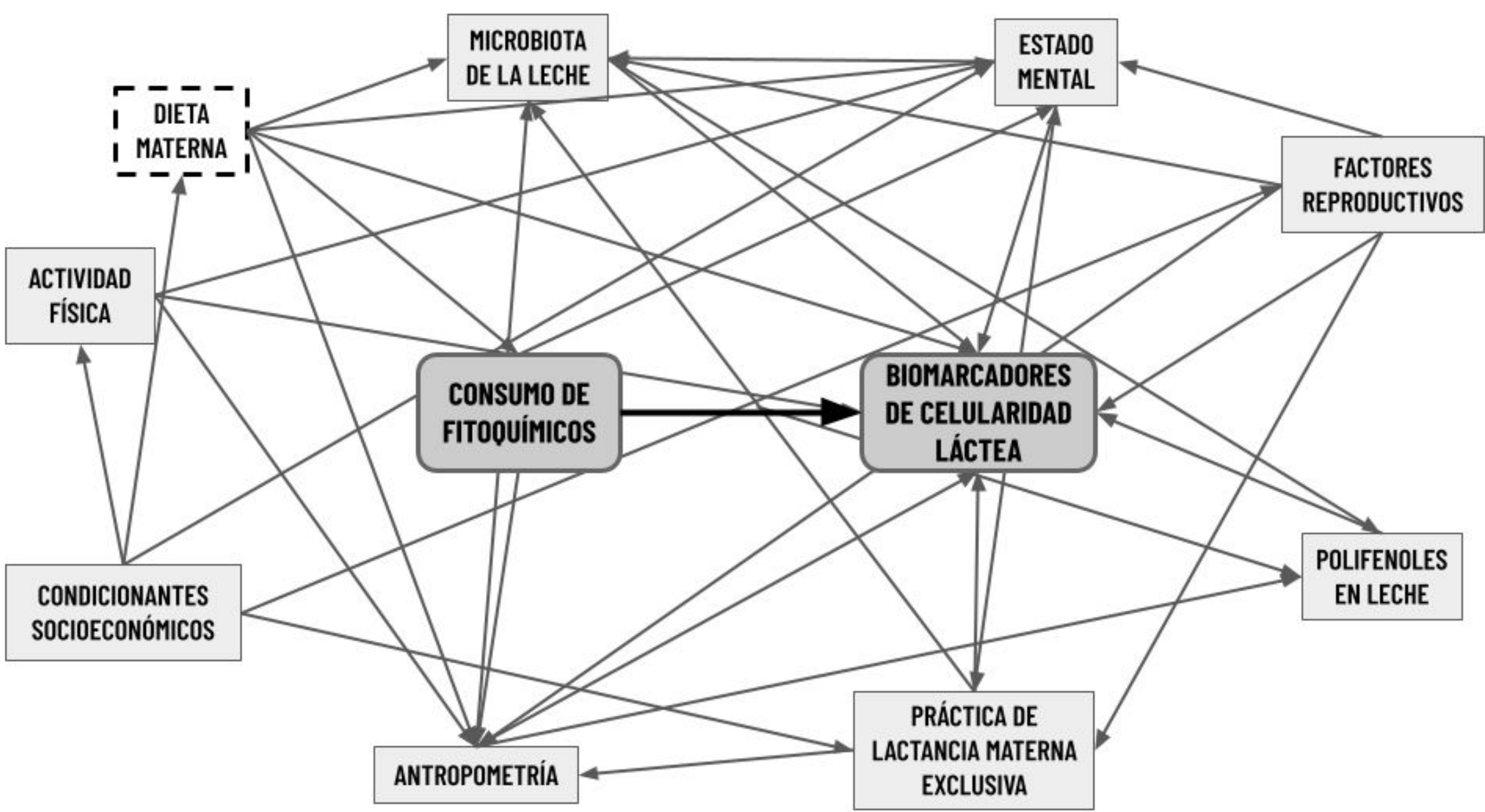


Figura 1. Grafo acíclico dirigido de las variables en estudio. Los recuadros oscuros corresponden a las variables independiente y dependiente. Los recuadros claros de línea continua corresponden a otras variables que modifican la relación entre las variables dependiente e independiente. La línea de puntos señala a la variable de ajuste. La flecha negra indica la relación causal entre la variable dependiente y la independiente. Las flechas grises indican otras relaciones causales entre las variables.

**Resultados:** En 37 muestras analizadas, se hallaron 893,23 (E.E. = 199,58) leucocitos por  $\mu$ L de LH, con un rango de 10 a 4150. Respecto a la viabilidad, la tinción con resazurina mostró una media de 641,62 (104,98) DO/L y un rango de 0 – 2730, y el DIOC6(3)  $6,40 \times 10^6$  ( $6,43 \times 10^5$ ) F/L con un rango de  $1,00 \times 10^5$  –  $1,81 \times 10^7$ . El consumo materno de lariciresinol mostró una relación directa con el conteo leucocitario en LH ( $\beta$  = 6,11). Se observaron marcadas tendencias al aumento de los leucocitos lácteos con el consumo de hesperetina ( $\beta$  = 5,04) y los tres índices dietarios ( $\beta$  = 9,01, 10,27 y 9,36 para IDM, IDF e IDE, respectivamente) (Tabla 1). El modelo de regresión mostró una adecuada convergencia con baja autocorrelación, y tamaños muestrales efectivos y eficiencia altos para los parámetros estimados. En cuanto al modelo de regresión de viabilidad celular, la eficiencia y el tamaño muestral estimados fueron altos para los parámetros estimados utilizando al DIOC6(3) como variable respuesta, no así con algunos parámetros de la resazurina (Tabla 2). La convergencia del modelo fue adecuada y la autocorrelación baja. No se observaron cambios en la tinción con resazurina respecto al consumo de los fitoquímicos, observándose sin embargo una tendencia a la disminución de la viabilidad celular con el IDE ( $\beta$  = -39,97). Por otro lado, el potencial mitocondrial se asoció positivamente al consumo de hesperetina ( $\beta$  = 10796,11), lariciresinol ( $\beta$  = 12126,77) y ácido 5-cafeoilquínico ( $\beta$  = 11755,29). Adicionalmente, los tres índices dietarios se relacionaron con mayor valores de fluorescencia.

**Tabla 1.** Asociación entre polifenoles de alto consumo y potencial bioactivo sobre el nivel de leucocitos/ $\mu$ L en leche de mujeres de Córdoba (Argentina) durante el período 2013 – 2020.

	$\beta$ medio	D. E.	IC 95%	ESS	Eficiencia (%)
Hesperetina (mg/d)	5,0380	4,2133	-3,1242 – 13,3548	22211,92	18,51
Lariciresinol (mg/d)	6,1064	2,6723	0,8789 – 11,4029	40261,78	33,55
Ácido 1- cafeoilquínico (mg/d)	4,6557	4,8525	-4,8478 – 14,2003	67071,64	55,89
Ácido 5- cafeoilquínico (mg/d)	2,3026	3,1797	-3,8778 – 8,5938	69581,73	57,98
IDM	9,0068	5,1582	-1,0914 – 19,1126	19499,28	16,25
IDF	10,2663	5,2720	-0,0588 – 20,6057	27440,36	22,87
IDE	9,3568	5,2155	-0,8290 – 19,6300	75715,47	63,10
Mate cebado (mL/d)	-0,8579	0,4658	-1,7881 – 0,0355	34661,60	28,88
Constante	9,9516	5,4687	-0,7693 – 20,6490	50591,66	42,16
Varianza	$1,27 \times 10^6$	$3,8 \times 10^5$	$7,25 \times 10^5$ – $2,2 \times 10^6$	91774,97	76,48
Tasa de aceptación = 0,3527					
Eficiencia media = 41,57%					

Nota: D.E.: desviación estándar; IC 95%: intervalo de credibilidad simétrico al 95%; ESS: tamaño muestral efectivo; IDM: Índice dietario macronutricional; IDF: Índice dietario fitoquímico; IDE: Índice dietario energético.

**Tabla 2.** Efecto de polifenoles de alto consumo y potencial bioactivo sobre la viabilidad celular en leche de mujeres de Córdoba (Argentina) durante el período 2013-2020.

	$\beta$ medio	D. E.	IC 95%	ESS	Eficiencia (%)
<i>DIOC6(3) (Fluorescencia/L)</i>					
Hesperetina (mg/d)	10796,11	5353,65	293,93 – 21277,92	83421,06	69,52
Lariciresinol (mg/d)	12126,77	4958,34	2380,51 – 21843,55	42962,41	35,80
Ácido 1- cafeoilquínico (mg/d)	8592,15	5414,66	-1948,60 – 19243,10	37299,45	31,08
Ácido 5- cafeoilquínico (mg/d)	11755,29	4956,68	2004,58 – 21425,06	98519,93	82,10
IDM	11868,80	5460,47	1206,07 – 22606,26	62749,26	52,29
IDF	11946,69	5473,05	1212,29 – 22651,03	36017,95	30,01
IDE	11830,34	5498,73	1063,34 – 22576,52	21572,43	17,98
Mate cebado (mL/d)	-247,62	860,22	-1,929,98 – 1448,55	87697,00	73,08
Constante	10075,98	5476,39	-646,75 – 20800,07	31543,92	26,29
<i>Resazurina (DO/L)</i>					
Hesperetina (mg/d)	4,368	4,869	-5,241 – 14,051	515,10	0,43
Lariciresinol (mg/d)	-1,838	2,312	-6,398 – 2,742	58480,92	48,73
Ácido 1- cafeoilquínico (mg/d)	3,239	7,631	-11,887 – 18,218	1006,11	0,84
Ácido 5- cafeoilquínico (mg/d)	-0,337	4,226	-8,558 – 8,134	1415,54	1,18
IDM	-5,723	20,036	-45,258 – 33,873	24446,30	20,37
IDF	9,471	20,569	-31,010 – 50,056	3488,50	2,91
IDE	-39,97	22,685	-85,045 – 4,774	13855,82	11,55
Mate cebado (mL/d)	-0,286	0,474	-1,22 – 0,652	1989,25	1,66
Constante	1341,105	646,194	66,502 – 2611,338	1286,55	1,07
Varianza 1:1	$2,4 \times 10^7$	$6,4 \times 10^6$	$1,44 \times 10^7$ – $3,94 \times 10^7$	110844,09	92,37
Varianza 1:2	77,3277	98,0131	-104,9983 – 287,9731	2412,97	2,01
Varianza 2:2	0,0049	0,0016	0,0027 – 0,0091	5613,84	4,68
Tasa de aceptación = 0,2531					
Eficiencia media = 28,85%					

Nota: D.E.: desviación estándar; IC 95%: intervalo de credibilidad simétrico al 95%; ESS: tamaño muestral efectivo; DIOC6(3): yoduro de 3-3’ dihexiloxacarbocianina; IDM: Índice dietario macronutricional; IDF: Índice dietario fitoquímico; IDE: Índice dietario energético.

**Conclusión:** La aplicación de un enfoque bayesiano en las regresiones múltiples permitió la obtención de estimaciones a partir de un tamaño muestral reducido empleando variables biológicas que son difíciles de estudiar con abordajes frecuentistas. Así, esta metodología permitió discriminar los diferentes potenciales moduladores de cuatro polifenoles de alto consumo dietario en la población de mujeres lactantes de Córdoba, estableciendo asociaciones entre tres de ellos con la celularidad de la LH.

1. Miranda AR, Scotta AV, Cortez MV, González-García N, Galindo-Villardón MP, Soria EA. Association of Dietary Intake of Polyphenols with an Adequate Nutritional Profile in Postpartum Women from Argentina. Preventive Nutrition and Food Science. 2022 Mar 3;27(1):20.  
2. Miranda AR, Cortez MV, Scotta AV, Soria EA. Dietary Intake of Polyphenols Enhances Executive/Attentional Functioning and Memory with an Improvement of the Milk Lipid Profile of Postpartum Women from Argentina. Journal of Intelligence. 2022 May 31;10(2):33.  
3. Castedo M, Macho A, Zamzani N, Hirsch T, Marchetti P, Uriel J, Kroemer G. Mitochondrial perturbations define lymphocytes undergoing apoptotic depletion in vivo. European journal of immunology. 1995 Dec;25(12):3277-84.  
4. Soria EA, Quiroga PL, Albrecht C, Ramos Elizagaray SI, Cantero JJ, Bongiovanni GA. Development of an antioxidant phytoextract of Lantana grisebachii with lymphoprotective activity against in vitro arsenic toxicity. Advances in Pharmacological Sciences. 2014 Jun 5;2014.  
5. Scotta AV, Miranda AR, Cortez MV, Soria EA. Three food pattern-based indices diagnose lactating women's nutritional inadequacies in Argentina: A clinimetric approach using diet quality indicators and breast milk biomarkers. Nutrition Research. 2022 Nov 1;107:152-64.  
6. Scotta AV, Cortez MV, Orosz L, Miranda AR, Soria EA. Yerba mate as a safe polyphenolic source during human lactation. Revista Medica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 2022 Aug 31;60(5):524-32.  
7. Baldwin SA, Larson MJ. An introduction to using Bayesian linear regression with clinical data. Behaviour research and therapy. 2017 Nov 1;98:58-75.