



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA
QUÍMICA E INDUSTRIAS EXTRACTIVAS**

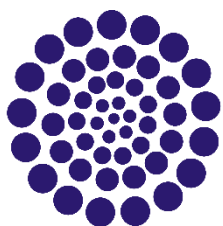
Informe de Proyecto

“Estudio de la vía Tracto-Digestivo-Materno ► Leche-Materna ► Tracto-digestivo-neonato. Una aproximación Ómica”

Autores:

Dr. Yair Cruz Narváez

•



CONACYT

Ciudad De México, 22 de Agosto de 2024

Indicé

Etapa 3	3
Objetivos específicos.....	3
1. Antecedentes	4
2. Metodología.....	6
2.1 Materiales.....	7
2.2 Equipo e Instrumentos.....	8
2.3 Extracción del Metaboloma.....	10
2.3.1 Metodología PBS-MC	10
2.3.2 Metodología MTBE-LM.....	11
2.3.3 Metodología Metanol: Agua	13
2.3.4 Metodología Metanol: Agua	14
3. Resultados	15
3.1 Análisis Comparativo.....	30
4. Conclusiones.....	32
Referencias bibliográfica	34

Proyecto Número 6669 denominado
***“Estudio de la vía Tracto-Digestivo-Materno ► Leche-Materna ► Tracto-digestivo-
neonato. Una aproximación Ómica”***

de la Convocatoria Ciencia de Frontera 2019

Etapas 3

Para el desarrollo de este trabajo, el equipo ha recolectado 60 muestras de leche materna, así como sus respectivas muestras fecales provenientes de la madre y recién nacidos.

Objetivos específicos

1. Comenzar el aislamiento de metabolitos totales de la leche materna y la fórmula láctea reconstituida recolectadas al nacimiento y a los 4 meses de edad de los infantes.
2. Crear una base de datos en coordinación con equipos del Cinvestav y del INPer. Condicionar las muestras para realizar un análisis del metaboloma de la leche materna y la fórmula láctea reconstituida, mediante espectrometría de masas de alta resolución.
3. Analizar el metaboloma. Meta. Iniciar el establecimiento de una base de datos con el perfil de los metabolitos de todas las muestras de leche materna en ESIQIE. Realizar un análisis del metaboloma de la leche materna y fórmula láctea reconstituida, por medio de espectrometría de masas de alta resolución.
4. Extraer metabolitos. Meta. Continuar/terminar el establecimiento de una base de datos de metabolitos a partir de las muestras de leche materna en ESIQIE. Aislar los metabolitos totales de muestras de leche materna y la fórmula láctea reconstituida recolectadas al nacimiento y a los 4 meses de edad de los infantes.

1. Antecedentes

“El estudio de la vía enteromamaria en México”

El estudio de la vía enteromamaria es de gran importancia debido a la recomendación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y UNICEF de mantener la lactancia materna exclusiva hasta por lo menos los primeros 6 meses de vida.

En el 2003 se informó que en México 1 de cada 3 bebés recibían leche materna hasta los 6 meses, demostrando que existen diversos factores que influyen en el abandono temprano de la lactancia materna, como, por ejemplo: no tener conocimientos sobre el periodo de lactancia, tener la creencia de que su duración es de 0 a 3 meses, no tener antecedentes de haberla realizado antes y falta de facilidades para realizarla principalmente por cuestiones laborales (Navarro-Estrella et al., 2003).

A pesar de esto, la Encuesta Nacional de Niños, Niñas y Mujeres (ENIM) de México reportó un aumento en la lactancia materna exclusiva en los últimos años, pasando de 14.4% en el 2012 a un 30.8% en el 2015. Sin embargo, se observó un decremento en la lactancia materna en zonas rurales, como en la región sur del país, pasando de 36.9% a 18.5%, lo que se atribuye a causas multifactoriales (físicas, estructurales y socioculturales) (Torres-Montalvo et al., 2020).

Debido a la importancia de la lactancia materna, en México, se han realizado investigaciones que demuestran la composición e inmunología que aporta la leche humana, explicando sus beneficios y promoviendo un cambio cultural para fomentar la lactancia materna hasta por lo menos los 6 primeros meses de vida y promoviéndola hasta después del inicio de la alimentación complementaria (“Conclusiones del 7o Foro Nacional de Lactancia Materna 2022”).

En el año 2023, se llevó a cabo el Seminario Institucional conocido como "Semana Mundial de la Lactancia Materna", el cual fue organizado por el Centro de Investigación en Nutrición y Salud (CINS) del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). Durante el evento, Anabelle Bonvecchio Arenas, investigadora del CINS, destacó que, en México, el 33% de las madres practica la lactancia materna exclusiva hasta los seis meses de vida de sus hijos. La meta para el año 2030 es incrementar esta cifra al 70%.

La lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses de vida sigue siendo un reto en algunos sectores de la población, y es importante seguir promoviendo y fomentando su práctica, para garantizar un adecuado desarrollo y crecimiento infantil. (Ortega Ibarra et al., 2021).

En México el estudio de la vía enteromamaria ha sido estudiado por el Departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Estos estudios proporcionan evidencia sobre la leche humana y sus principales fuentes de bacterias que colonizan el tracto gastrointestinal neonatal desde los primeros días de vida, apoyando la idea de la transmisión vertical madre-hijo a través de la lactancia materna exclusiva (Corona-Cervantes et al., 2020).

En Guadalajara estudios han demostrado que la calidad nutricional de la leche materna está completamente ligada con la dieta y el ritmo de vida que sigue la madre lactante, así como el impacto que tiene en las bacterias lácticas con potencial probiótico (Amezcuza López et al., 2019).

La caracterización de la microbiota en la leche humana de madres con diabetes mellitus gestacional también es un tema importante en México, ya que existe una alta prevalencia de mujeres con sobrepeso y obesidad y un gran número de estas desarrolla diabetes gestacional y preeclampsia.

Aunque se han realizado diversos estudios sobre la vía enteromamaria en México, quedan muchas áreas que requieren mayor investigación y estudio experimental.

2. Metodología

Para identificar a los metabolitos, se emplean diferentes técnicas analíticas, como: Espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR), Cromatografía líquida (LC), Electroforesis capilar (CE), Cromatografía de gases (GC), Espectrometría de masas (MS), Análisis de Inyección en Flujo con Ionización por Electrospray y Espectrometría de Masas de Resonancia Ciclotrónica de Iones con Transformada de Fourier (FIA-ESI FT-ICR MS), entre otras.

✓ FIA - ESI FT-ICR MS

La técnica analítica FIA-ESI FT-ICR MS (Flow Injection Analysis-Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry) es una técnica avanzada de espectrometría de masas que combina varios componentes y métodos para proporcionar una alta resolución y precisión en la identificación y cuantificación de compuestos químicos.

- **Flow Injection Analysis (FIA):** FIA es una técnica analítica que implica la introducción de una muestra líquida en un flujo continuo, que luego se mezcla con reactivos o diluyentes para su análisis.
- **ESI (Electrospray Ionization):** La Ionización por Electrospray es una técnica que convierte las moléculas en iones cargados en solución acuosa o solventes orgánicos. Esto se logra al aplicar un potencial eléctrico a una aguja capilar que contiene la muestra líquida, generando una neblina de gotas cargadas en aerosol que luego se secan, produciendo iones que pueden ser analizados por espectrometría de masas.
- **FT-ICR MS (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry):** Esta es una técnica de espectrometría de masas de alta resolución y precisión. En FT-ICR MS, los iones generados por ESI son introducidos en un espectrómetro de masas que utiliza un campo magnético para inducir una resonancia ciclotrónica de los iones. La frecuencia de esta resonancia ciclotrónica está relacionada con la relación masa/carga (m/z) de los iones, lo que permite su detección y cuantificación precisa.

Se ha demostrado que los espectrómetros de masas (FT-ICR) producen una gran cantidad de conocimientos sobre sistemas químicos complejos porque permiten la asignación de fórmulas moleculares inequívocas, incluso si la gran mayoría de las señales son de identidad desconocida. (Forcisi et al., 2022)

La evaluación del metaboloma por FIA - ESI FT-ICR MS, requiere el uso de materiales, equipos y métodos adecuados para garantizar resultados precisos y reproducibles.

2.1 Materiales

Reactivos	Marca	Pureza
Metanol grado HPLC	VWR Chemicals	Pureza 99,9%.
Ácido Fórmico 85% Reactivo	Química S.L.U	Pureza 99,9%.
Metil ter-butil eter anhidro	Tedia	Pureza del 99% o superior.
Solución Salina tamponada con fosfato PBS (10X) pH 7,4, sin ARNasa	Invitrogen	Pureza del 99% o superior.
Hidróxido de Sodio $\geq 98.0\%$	JT Baker	Pureza $\geq 98.0\%$
Agua Desionizada	Hycel	Tiene una pureza de al menos $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ de conductividad eléctrica a 25°C .

2.2 Equipo e Instrumentos

Nombre del equipo	Marca	Modelo	País de Origen
Vortex	Vortex-Genie 1	 <p>Figura 1. Modelo SKU: SI-0136</p>	Estados Unidos
Balanza	Ohaus Explorer	 <p>Figura 2. E02140 Balanza</p>	Estados Unidos
Centrífuga	Thermo Fisher Scientific	 <p>Figura 3. Modelo Sorvall Legend Micro 21/21R</p>	Estados Unidos
Agua MilliQ	Merck Millipore	 <p>Figura 4. Modelo PB1554ES00</p>	Alemania
Espectrómetro MS solariX	Bruker	 <p>Figura 5. Bruker solariX XR 12T</p>	Alemania





Nombre del equipo	Marca	Modelo	País de Origen
Eppendorf PCR Tubes	VWR International	 Figura 6. Eppendorf sp	Estados Unidos
Pipetas y puntas de pipetas	ONILAB	 Figura 7. Pipeta y punta de pipetas sp	Estados Unidos
Filtro de jeringa con membrana de PTFE de 0.22 µm y 0.45 µm	Biomed Scientific	 Figura 8. Filtro de jeringa sp	Estados Unidos
Medidor De PH de Mesa	Thermo Fisher Scientific	 Figura 9. Modelo PHS-3CU	Estados Unidos

Tabla 2. Equipo e Instrumentos

2.3 Extracción del Metaboloma

2.3.1 Metodología PBS-MC

Extracción del metaboloma con Solución Salina Tamponada con Fosfatos (PBS)

Muestras de Meconio y Coprológicas.

1. Homogenizar la muestra en su contenedor original, utilizando un palillo o abatelenguas delgado de madera.
2. Unificar la muestra (microcentrífuga – 10 segundos).
3. Pesar 200 mg de muestra en un tubo eppendorf de 1.5 mL.
4. Adicionar 800 µl de PBS 1X (pH 6.5). Relación 1:5 (p/v).
5. Homogenizar con vortex (2 min, velocidad media).
6. Tomar pH inicial de las muestras y ajustar a pH 7.4 y pH 9.1, aprox.
7. Centrifugar durante 30 min/13,000 rpm./4°C
8. Recuperar el sobrenadante en un tubo eppendorf de 1.5 mL nuevo (desechar el pellet formado).
9. Filtrar el sobrenadante utilizando filtros de 0.45 µm.
10. Filtrar con filtro de 0.22 µm.
11. Tomar pH final.

NOTA: Si se desea sonicar (20 seg, amplitud de 20, pulso continuo, punta S&M1003 - SONICS Vibra cell), se realiza después del paso 8).

NOTA: Mantener las muestras en congelación hasta su análisis

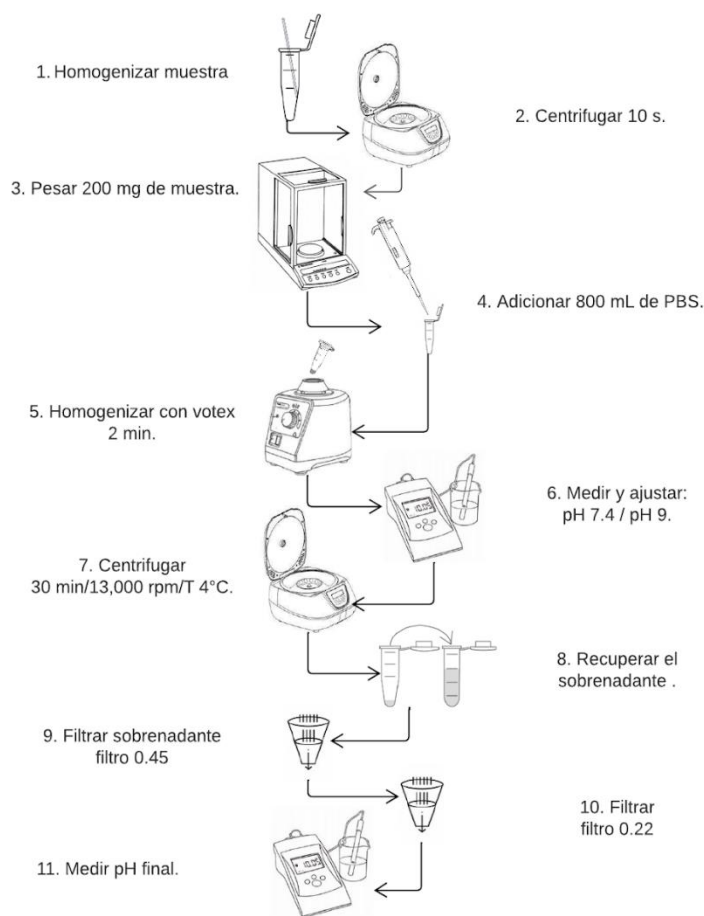


Figura 10. Diagrama de Metodología PBS-MC. Muestras de Meconio y Coprológicas.

2.3.2 Metodología MTBE-LM.

Extracción del metaboloma con Metil ter-butil eter (MTBE).

Muestras de leche materna.

1. Homogenizar la muestra en su contenedor original, durante 1 min. en vortex a velocidad media.
2. Tomar una alícuota de 200 µL de muestra en un tubo eppendorf nuevo.
3. Adicionar 700 µL de metanol grado HPLC.

4. Adicionar 700 μ L de terbutil metil éter anhydrous 99.8%.
5. Homogenizar con vortex durante 1 min, velocidad media.
6. Centrifugar 15 min. /7000 rpm./4°C.
7. Recuperar sobrenadante
8. Filtrar el sobrenadante (filtros 0.22 μ m).
9. Medir pH final.

NOTA: Si se desea sonicar (20 seg, amplitud de 20, pulso continuo, punta S&M1003 - SONICS Vibra cell) se realiza después de agregar el terbutil metil éter.

NOTA: Mantener las muestras en congelación hasta su análisis.

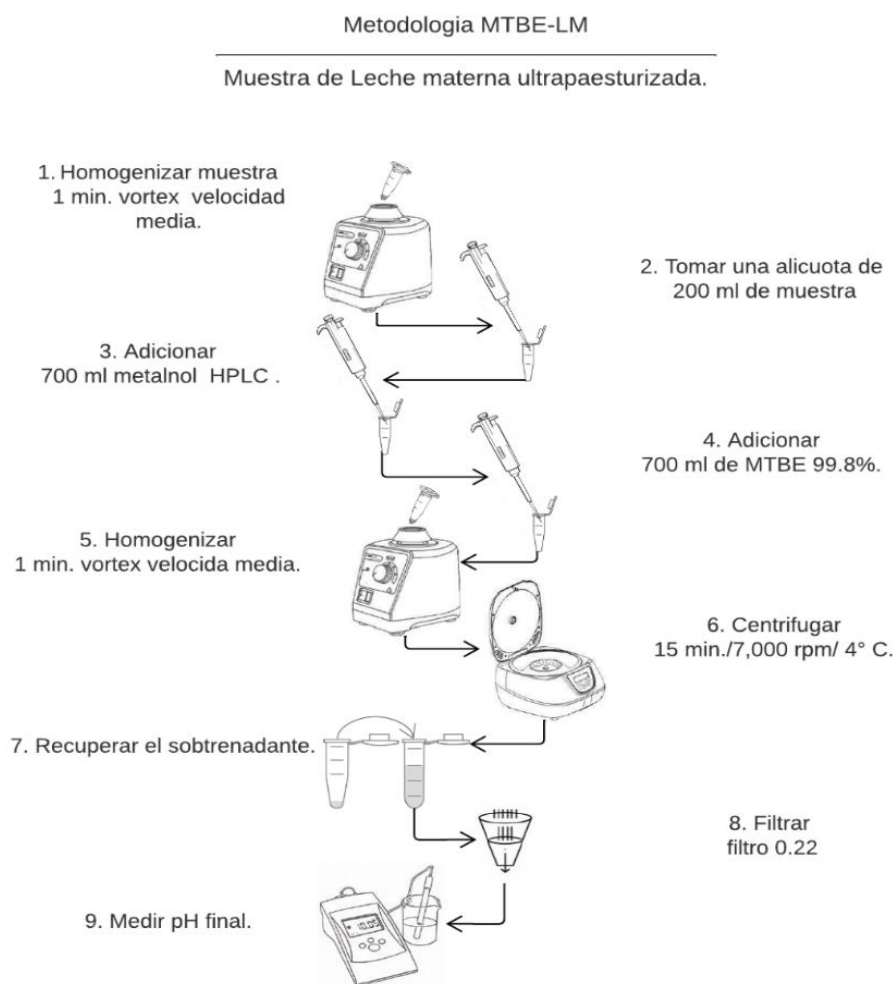


Figura 11. Diagrama de Metodología MTBE-LM. Muestras de leche materna ultra pasteurizada

2.3.3 Metodología Metanol: Agua

Extracción del metaboloma con Metanol: Agua.

Muestras de Meconio y coprológicas.

1. Homogenizar la muestra en su contenedor original, durante 1 min en vortex a velocidad media.
2. Pesar 50 mg de muestra en un tubo eppendorf nuevo.
3. Adicionar 500 μ L de agua desionizada.
4. Homogenizar con vortex durante 1 min, velocidad media.
5. Adicionar 150 μ L de metanol grado HPLC.
6. Homogenizar con vortex durante 1 min, velocidad media.
7. Centrifugar 5 min./13,000 rpm.
8. Recuperar sobrenadante.
9. Filtrar el sobrenadante (filtros 0.22 μ m).

NOTA: Mantener las muestras en congelación hasta su análisis.

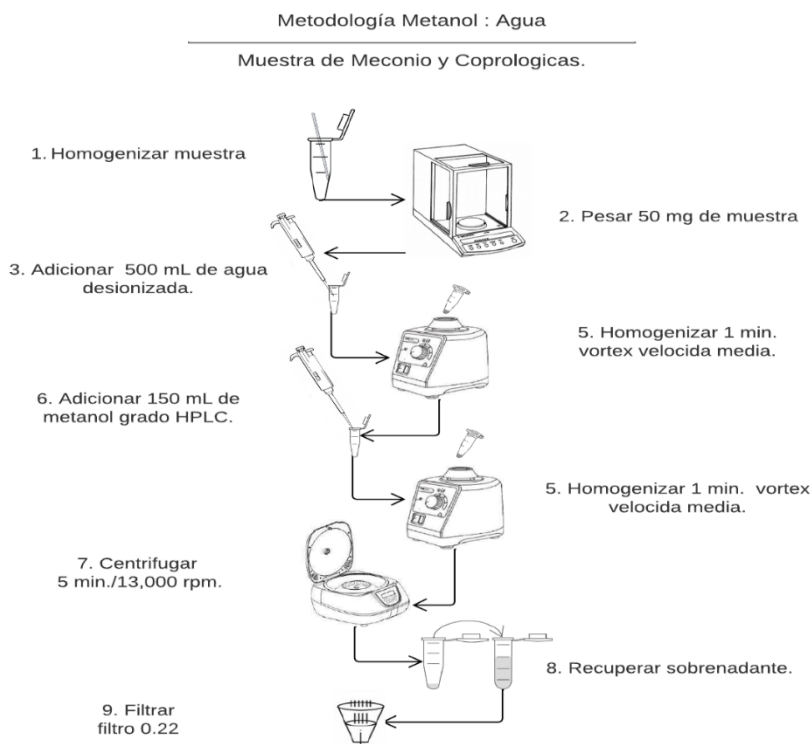


Figura 12. Diagrama de Metodología Metanol: Agua. Muestras de Meconio y coprológicas.

2.3.4 Metodología Metanol: Agua

Extracción del metaboloma con Metanol: Agua.

Muestras de leche materna.

1. Homogenizar la muestra en su contenedor original, durante 1 min en vortex a velocidad media.
2. Tomar una alícuota de 100 μ L de muestra en un tubo eppendorf nuevo.
3. Adicionar 500 μ L de agua desionizada.
4. Homogenizar con vortex durante 1 min, velocidad media.
5. Adicionar 150 μ L de metanol grado HPLC.
6. Homogenizar con vortex durante 1 min, velocidad media.
7. Centrifugar 5 min. /13,000 rpm.
8. Recuperar sobrenadante.
9. Filtrar el sobrenadante (filtros 0.22 μ m).

NOTA: Mantener las muestras en congelación hasta su análisis.

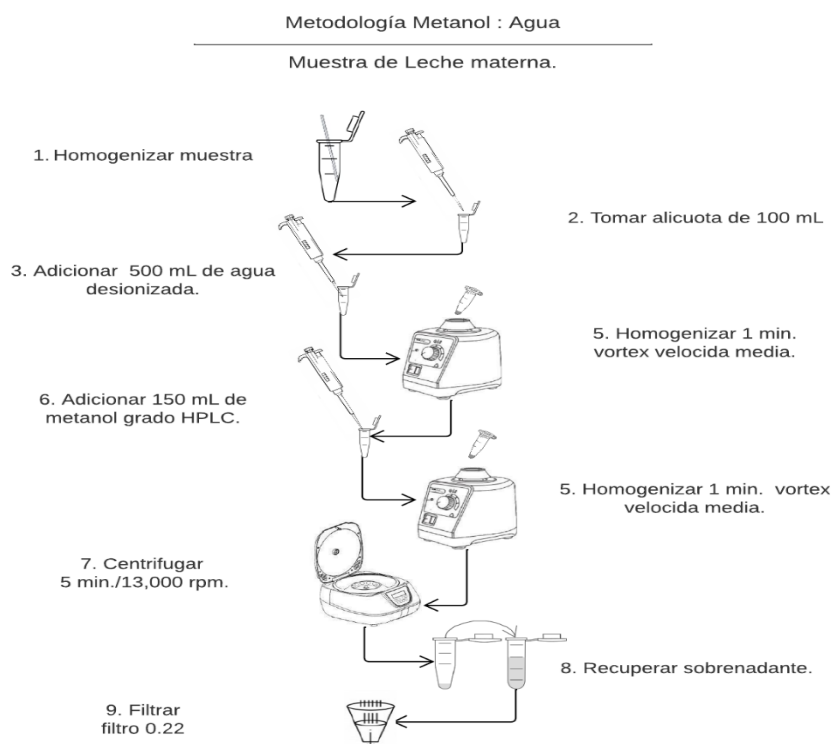


Figura 13. Diagrama de Metodología Metanol: Agua. Muestras de leche materna.

3. Resultados

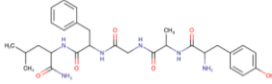
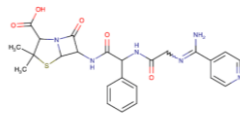
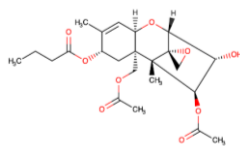
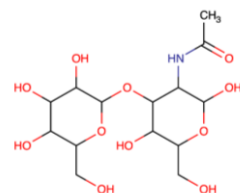
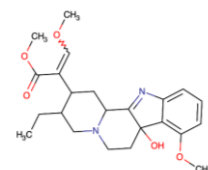
Los resultados revelaron diferencias significativas en la eficacia de los métodos de extracción en la detección de metabolitos en las muestras analizadas. Específicamente, el análisis de la Tabla 3 muestra que el método MeOH:H₂O destacó como el más eficaz en la detección de metabolitos en comparación con los métodos PBS y MTBE.

Para las muestras de meconio, el método MeOH:H₂O permitió detectar un 43% más de metabolitos que el método MTBE y un 64% más que el método PBS. En las muestras coprológicas, se observó que el método MeOH:H₂O posibilitó la identificación de un 72% más de metabolitos que el método PBS. Además, en el caso de las muestras de leche, se encontró que el método MeOH:H₂O facilitó la detección de un 40% más de metabolitos en comparación con el método MTBE.

MUESTRA/MÉTODO	MeOH:H ₂ O	MTBE	PBS
MECONIO	3,409	1,264	251
COPROLÓGICAS	2,233	N/A	355
LECHE	1,683	720	N/A

Tabla 3. Número Total De Metabolitos Detectados Con Los Diferentes Métodos De Análisis

Posteriormente, se filtraron los datos para identificar los metabolitos comunes en muestras de la misma biología y que fueron extraídos utilizando el mismo método de extracción. Este proceso de filtrado permitió identificar los metabolitos consistentes en cada grupo de muestras. Para estos metabolitos comunes, se calculó un promedio de las lecturas obtenidas, representando la abundancia promedio de cada metabolito en las muestras del mismo grupo. Los metabolitos se ordenaron de mayor a menor según su abundancia promedio, proporcionando una visión clara de los metabolitos más abundantes en cada grupo de muestras. Las tablas describen los cinco metabolitos más abundantes encontrados en cada muestra con los diferentes métodos de extracción.

Tabla 4. Metabolitos más abundantes encontrados en muestras de meconio método MeOH: H ₂ O			
NOMBRE	ESTRUCTURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIAS
<p>Enkephalinamide-Leu, Ala (2)-</p> <p>Fórmula química: C₂₉H₄₀N₆O₆</p> <p>PM: 568.675 g / mol</p>		<p>Enkephalinamide-Leu, Ala(2)- es un oligopéptido identificado en la sangre humana, aunque se ha investigado poco. No es un metabolito natural y se encuentra solo en individuos expuestos a él o sus derivados. Pertenece al exposoma humano, que comprende todas las exposiciones a lo largo de la vida, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Pirbenicilina</p> <p>Fórmula química: C₂₄H₂₆N₆O₅S</p> <p>PM: 510.57 g / mol</p>		<p>La pirbenicilina, es un oligopéptido identificado en la sangre humana. No es un metabolito natural y solo se encuentra en individuos expuestos a él o sus derivados. Pertenece al exposoma humano, que comprende todas las exposiciones a lo largo de la vida, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>8-Butanoilneosolaniol</p> <p>Fórmula química: C₂₃H₃₂O₉</p> <p>PM: 452.4948 g / mol</p>		<p>El 8-Butanoilneosolaniol, también conocido como ácido isopropílico butírico o 1-metiletil butanoato, es un tricoteceno, un tipo de micotoxina de sesquiterpeno.</p>	<p>(Simons & Toomre, 2000)</p>
<p>beta-D-Galp-(1→3)- beta-D-GlcpNAc</p> <p>Fórmula química: C₁₄H₂₅NO₁₁</p> <p>PM: 383.35 g / mol</p>		<p>El beta-D-Galp-(1→3)-beta-D-GlcpNAc es un tipo de acilamino azúcar, identificado en la sangre humana. No es natural y se encuentra solo en individuos expuestos a él. Pertenece al exposoma humano, que comprende todas las exposiciones a lo largo de la vida, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>7-Hidroxicloroquina</p> <p>Fórmula química: C₂₃H₃₀N₂O₅</p> <p>PM: 414.502 g / mol</p>		<p>El 7-Hidroxicloroquina es un tipo de alcaloide de tipo corinantino que se ha identificado en la sangre humana. Se sabe poco sobre este compuesto, pero no es un metabolito natural y solo se encuentra en personas expuestas a él. Pertenece al exposoma humano, que comprende todas las exposiciones a lo largo de la vida, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>

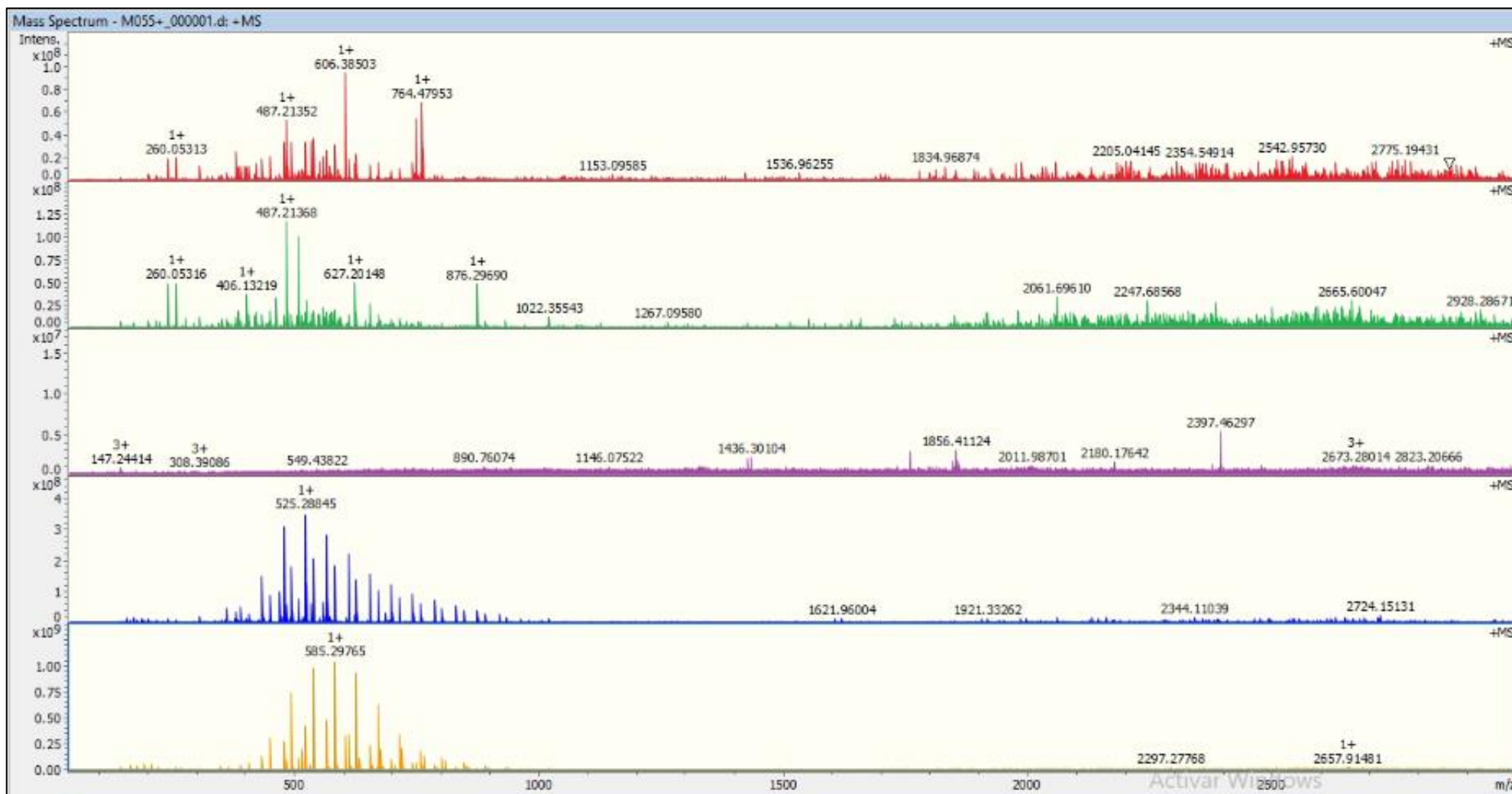


Figura 14. Espectro de metabolitos más abundantes encontrados en muestras de meconio método MeOH: H₂O

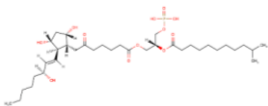
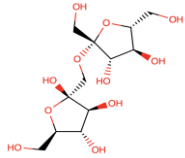
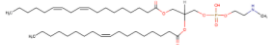
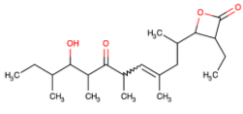

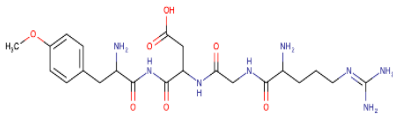
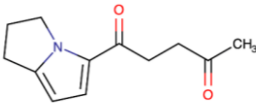
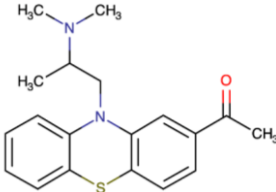
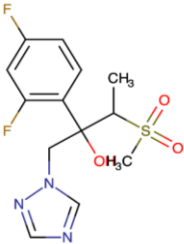

Tabla 5. Metabolitos más abundantes encontrados en muestras de meconio método MTBE			
NOMBRE	ESTRUCTURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIAS
<p>PA (6 keto-PGF1alpha/i-12:0)</p> <p>Fórmula química: C₃₅H₆₃O₁₂P</p> <p>PM: 706.851 g / mol</p>		<p>El PA(6 keto-PGF1alpha/i-12:0) es un tipo de ácido fosfatídico oxidado, un glicerofosfolípido que participa en la señalización celular. Estos lípidos se sintetizan mediante varias enzimas y pueden tener diferentes combinaciones de ácidos grasos unidos a ellos. Éste específicamente contiene una cadena de 6-Keto-prostaglandina F1alpha en la posición C-1 y una cadena de 10-metilundecanoil en la posición C-2. Los ácidos fosfatídicos oxidados, al igual que otros lípidos oxidados, están involucrados en procesos de señalización celular. Pueden ser sintetizados de varias maneras, incluida la oxidación enzimática y no enzimática de los lípidos.</p>	<p>(Hajeyah et al., 2020)</p>
<p>Inulobiose</p> <p>Fórmula química: C₁₂H₂₂O₁₁</p> <p>PM: 342.2965 g / mol</p>		<p>La inulobiosa es un oligosacárido natural que se encuentra en ciertas plantas y tiene beneficios potenciales para la salud intestinal y metabólica.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>PE-NMe(18:2(9Z,12Z)/18:1(9Z))</p> <p>Fórmula química: C₄₂H₇₈NO₈P</p> <p>PM: 756.059 g / mol</p>		<p>PE-NMe(18:2(9Z,12Z)/18:1(9Z)) es un tipo de lípido llamado monometilfosfatidiletanolamina, que se forma cuando la fosfatidiletanolamina se metila. Se encuentra en cantidades pequeñas en tejidos animales o vegetales y contiene ácido linoleico en una posición y ácido oleico en otra. Este lípido es importante para la estructura y señalización de las membranas celulares.</p>	<p>(Wishart et al., 2007)</p>
<p>3-Ethyl-4-(9-hydroxy-4,6,8,10-tetramethyl-7-oxododec-4-en-2-yl) oxetan-2-one</p> <p>Fórmula química: C₂₁H₃₆O₄</p> <p>PM: 352.515 g / mol</p>		<p>Ebelactone B es una lactona de terpeno, un tipo de lípido que contiene un anillo de lactona. Se ha detectado en la sangre humana. La 3-etil-4-(9-hidroxi-4,6,8,10-tetrametil-7-oxododec-4-en-2-il) oxetan-2-ona no es un metabolito natural y solo se encuentra en individuos expuestos a este compuesto o sus derivados. Técnicamente, forma parte del exposoma humano, que incluye todas las exposiciones de un individuo a lo largo de la vida, desde antes del nacimiento, incluidas las exposiciones ambientales y ocupacionales.</p>	<p>Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>LysoPC(18:3(6Z,9Z,12Z)/0:0)</p> <p>Fórmula química: C₂₆H₄₈NO₇P</p> <p>PM: 517.6356 g / mol</p>		<p>LysoPC(18:3(6Z,9Z,12Z)), una forma específica de lisofosfatidilcolina, tiene un impacto significativo en la señalización celular y la regulación del sistema inmunológico. Sus niveles fluctuantes están vinculados a diversas condiciones inflamatorias y patológicas, como la sepsis y la hipoalbuminemia, lo que sugiere un papel crucial en la respuesta inmune y la inflamación.</p>	<p>(Knuplez & Marsche, 2020; Sun et al., 2015; Wernly et al., 2016)</p>



Figura 15. Espectro de metabolitos más abundantes encontrados en muestras de meconio Método MTBE

Tabla 6. Metabolitos más abundantes encontrados en muestras de meconio método PBS			
NOMBRE	ESTRUCTURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIAS
<p>Amida de arginina-glicina-aspartato-O-metil tirosina</p> <p>Fórmula química: $C_{22}H_{34}N_8O_7$</p> <p>PM: 522.563 g / mol</p>		<p>La amida de arginina-glicina-aspartato-O-metil tirosina es un ejemplo de péptido híbrido, que contiene al menos dos tipos diferentes de aminoácidos vinculados entre sí mediante enlaces peptídicos. Aunque se han publicado pocos estudios sobre este compuesto, se ha identificado en la sangre humana. No es un metabolito natural y solo se encuentra en individuos expuestos a él o sus derivados. Esta amida forma parte del exposoma humano, que abarca todas las exposiciones a lo largo de la vida y su relación con la salud, desde antes del nacimiento e incluyendo factores ambientales y ocupacionales.</p>	(Barupal & Fiehn, 2019)
<p>1-(2,3-Dihidro-1H-pirrolizina-5-yl)-1,4-pentanedione</p> <p>Fórmula química: $C_{12}H_{15}NO_2$</p> <p>PM: 205.253 g / mol</p>		<p>La 1-(2,3-Dihidro-1H-pirrolizina-5-il)-1,4-pentanediona es un compuesto orgánico que pertenece a la clase de las pirrolizinas. Está compuesto por un anillo de pirrol fusionado con un anillo de pirrolidina. Esta estructura molecular le confiere propiedades únicas y potencialmente interesantes en términos de su actividad biológica y sus posibles aplicaciones.</p>	(Barupal & Fiehn, 2019)
<p>Aceprometazina</p> <p>Fórmula química: $C_{19}H_{22}N_2OS$</p> <p>PM: 326.456 g / mol</p>		<p>La aceprometazina, derivada de la fenotiazina, es un psicotrópico utilizado principalmente en animales como sedante y antiemético. Actúa como antagonista en varios receptores, como los dopaminérgicos, serotoninérgicos, histaminérgicos y muscarínicos, lo que brinda propiedades antipsicóticas, ansiolíticas y antieméticas. Sin embargo, puede provocar efectos secundarios como sedación, hipotensión y efectos anticolinérgicos. Se encuentra presente en personas que han usado este medicamento.</p>	(Barupal & Fiehn, 2019)
<p>(2S,3S)-2-(2,4-Difluorophenyl)-3-methylsulfonyl-1-(1,2,4-triazol-1-yl) butan-2-ol</p> <p>Fórmula química: $C_{13}H_{15}F_2N_3O_3S$</p> <p>PM: 331.34 g / mol</p>		<p>(2S,3S)-2-(2,4-Difluorofenil)-3-metilsulfonyl-1-(1,2,4-triazol-1-il) butan-2-ol es un fenilpropano, un tipo de compuesto orgánico. Se ha detectado en sangre humana. No es un metabolito natural y solo se encuentra en personas expuestas a este compuesto o sus derivados. En términos técnicos, forma parte del exposoma humano, que engloba todas las exposiciones de un individuo a lo largo de la vida, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	(Barupal & Fiehn, 2019)
<p>LysoPC(O-18:0/0:0)</p> <p>Fórmula química: $C_{26}H_{56}NO_6P$</p> <p>PM: 509.6997 g / mol</p>		<p>La LysoPC(O-18:0/0:0), componente esencial en la vía metabólica de los lípidos éter. Los lípidos éter son importantes en funciones biológicas como la mielinización y la estructura celular. Además, los lisofosfatidilcolinas (LPC) tienen efectos antiinflamatorios regulando la respuesta inmunitaria. Sin embargo, niveles bajos de LPC pueden desregular esta respuesta, lo que puede afectar la salud.</p>	(Barupal & Fiehn, 2019)

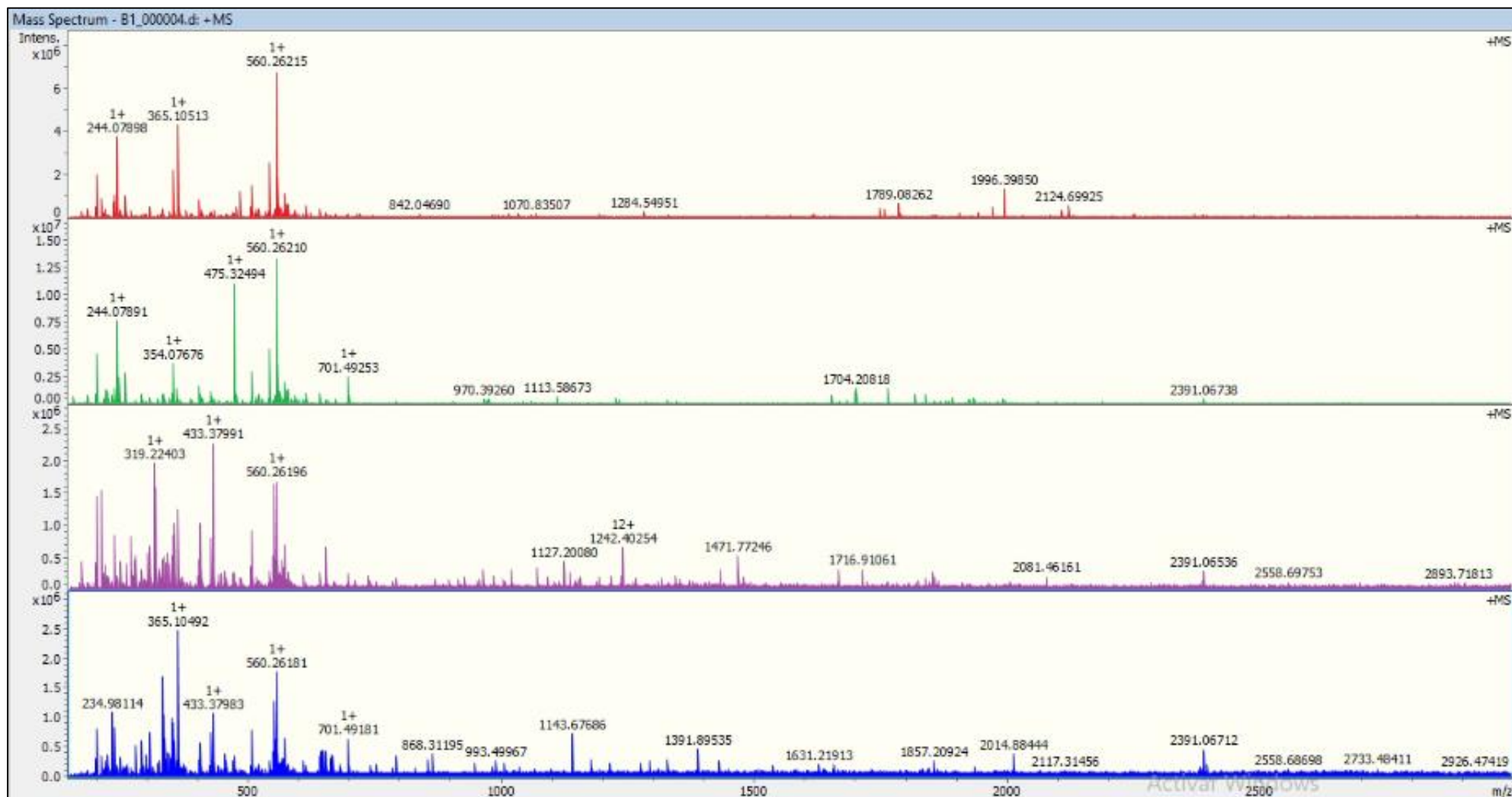
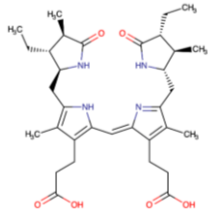
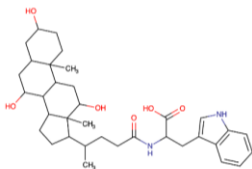
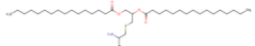
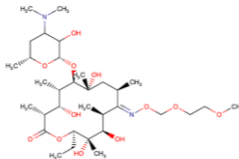
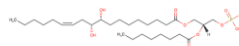


Figura 16. Espectro de metabolitos más abundantes encontrados en muestras de meconio método PBS

Tabla 7. Metabolitos más abundantes encontrados en muestras coprológicas método Metanol: Agua			
NOMBRE	ESTRUCTURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIAS
<p>Estercobilina</p> <p>Fórmula química: $C_{33}H_{46}N_4O_6$</p> <p>PM: 594.753 g / mol</p>		<p>La estercobilina, responsable del color marrón de las heces, se forma a partir de la bilirrubina mediante reducción. Los microbios intestinales reducen la bilirrubina a urobilinógeno, que puede convertirse en estercobilinógeno y luego en estercobilina, o transformarse directamente en estercobilina. Este último compuesto da color a las heces y se excreta en ellas como un metabolito microbiano.</p>	<p>(Jiménez-Girón et al., 2015)</p>
<p>Colitriptófano</p> <p>Fórmula química: $C_{35}H_{50}N_2O_6$</p> <p>PM: 594.793 g / mol</p>		<p>El colitriptófano, un tipo de conjugado de ácido biliar-aminoácido, es importante para varios procesos fisiológicos, como la digestión de grasas, el metabolismo del colesterol y la función hepática. Estos compuestos son producidos por microorganismos, especialmente especies de Clostridia. Se encuentran con más frecuencia en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, fibrosis quística y en bebés.</p>	<p>(Guzior & Quinn, 2021; Quinn et al., 2020)</p>
<p>2,3-Dipalmitoil-S-glicerilcisteína</p> <p>Fórmula química: $C_{38}H_{73}NO_6S$</p> <p>PM: 672.06 g / mol</p>		<p>El ácido 2,3-Dipalmitoil-S-glicerilcisteína, clasificado como un derivado de la cisteína, ha sido escasamente estudiado según la literatura disponible. Detectado en la sangre humana en individuos expuestos a este compuesto o sus derivados, como el 2,3-dipalmitoil-S-glicerilcisteína, este último no se encuentra naturalmente y forma parte del exposoma humano. Este exposoma representa todas las exposiciones de un individuo a lo largo de su vida, incluidas influencias ambientales y ocupacionales, desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Descladinosa roxitromicina</p> <p>Fórmula química: $C_{33}H_{62}N_2O_{12}$</p> <p>PM: 678.8516 g / mol</p>		<p>La roxitromicina de descladinosa, un metabolito de la roxitromicina, es un compuesto derivado de la eritromicina, un antibiótico macrólido semi sintético utilizado para tratar diversas infecciones. Aunque se desarrolló inicialmente para combatir infecciones respiratorias, urinarias y de tejidos blandos, actualmente se encuentra en ensayos clínicos para evaluar su eficacia en el tratamiento de la pérdida de cabello de patrón masculino.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>PA (18:1(12Z)-2OH (9,10) /8:0)</p> <p>Fórmula química: $C_{29}H_{55}O_{10}P$</p> <p>PM: 594.723 g / mol</p>		<p>PA (18:1(12Z)-2OH (9,10) /8:0) es un tipo de ácido fosfatídico oxidado, un glicerofosfolípido crucial en la señalización celular, derivado de la oxidación de cadenas de ácidos grasos. Este compuesto, con una cadena de 9,10-hidroxi-octadecenoil en la posición C-1 y una cadena de octanoil en la posición C-2, es fundamental para la estructura y función de la membrana celular, así como para la señalización intracelular.</p>	<p>(Hajeyah et al., 2020)</p>

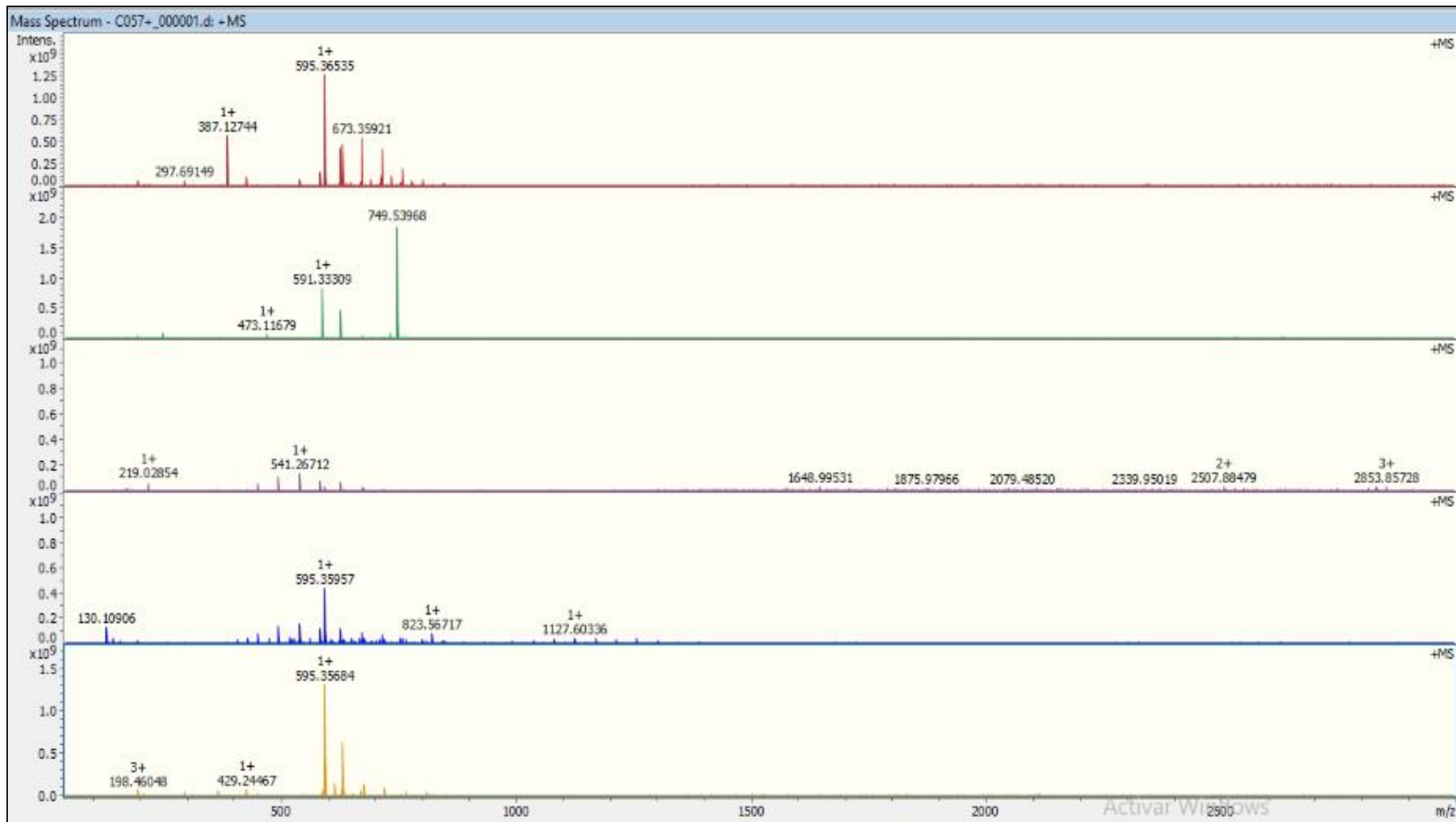
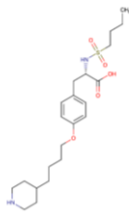
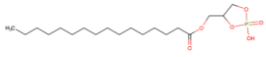
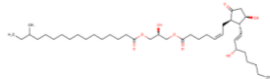
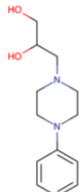
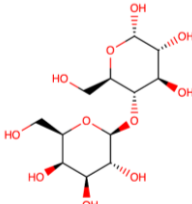


Figura 17. Espectro de metabolitos más abundantes encontrados en muestras coprológicas método Metanol: Agua

Tabla 8. Metabolitos más abundantes encontrados en muestras coprológicas método PBS			
NOMBRE	ESTRUCTURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIAS
<p>Tirofiban</p> <p>Fórmula química: C₂₂H₃₆N₂O₅S</p> <p>PM: 440.597 g / mol</p>		<p>En el cuerpo humano, el tirofiban desempeña un papel crucial en la vía de acción asociada con su nombre. Este compuesto se clasifica como un metabolito primario, lo que significa que es esencial para los procesos metabólicos y fisiológicos fundamentales. Los metabolitos primarios son vitales para el crecimiento, desarrollo y reproducción de los organismos, ya que participan directamente en estas funciones esenciales</p>	<p>(Juwana et al., 2010)</p>
<p>CPA (16:0/0:0)</p> <p>Fórmula química: C₁₉H₃₇O₆P</p> <p>PM: 392.4672 g / mol</p>		<p>El cPA(16:0/0:0) es un tipo de ácido fosfatídico cíclico, comúnmente encontrado en el cerebro humano y en menor medida en el suero sanguíneo. Se caracteriza por tener un grupo fosfato cíclico en posiciones específicas del esqueleto de glicerol. Se ha observado que este compuesto se acumula en tejidos lesionados y posee actividades biológicas distintas, como la inhibición de la ADN polimerasa alfa y la supresión de la invasión y metástasis de células cancerosas</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>DG(a-17:0/0:0/PGE2)</p> <p>Fórmula química: C₄₀H₇₀O₈</p> <p>PM: 678.992 g / mol</p>		<p>DG(a-17:0/0:0/PGE2) es un tipo de diacilglicerol, una clase de glicerolípidos compuestos por glicerol y ácidos grasos. En este caso, los grupos acilo son ácidos grasos de 17 carbonos y sin insaturaciones. La presencia de "PGE2" sugiere asociación con la prostaglandina E2. Los diacilgliceroles son importantes en la vía metabólica de los fosfolípidos, actuando como precursores de otros lípidos esenciales para las membranas celulares y funciones biológicas como señalización y transporte de lípidos.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Dropropizina</p> <p>Fórmula química: C₁₃H₂₀N₂O₂</p> <p>PM: 236.315 g / mol</p>		<p>La dropropizina, también conocida como catabex, es un supresor de la tos. Pertenece a la clase de compuestos llamados fenilpiperazinas. Se ha encontrado en la sangre humana, pero no es un metabolito natural. La dropropizina forma parte del exposoma humano, que incluye todas las exposiciones a lo largo de la vida de un individuo y su impacto en la salud.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Alpha-Lactose</p> <p>Fórmula química: C₁₂H₂₂O₁₁</p> <p>PM: 342.2965 g / mol</p>		<p>La alfa-lactosa es el azúcar predominante en la leche, proporcionando la principal fuente de energía para los recién nacidos y desempeñando un papel importante en la regulación osmótica durante la lactancia. Esta sustancia es digerida por la lactasa intestinal (EC 3.2.1.108), una enzima activa en los recién nacidos cuya actividad se reduce después del destete. La presencia de lactosa en la orina indica el consumo de leche.</p>	<p>(Wishart et al., 2007)</p>

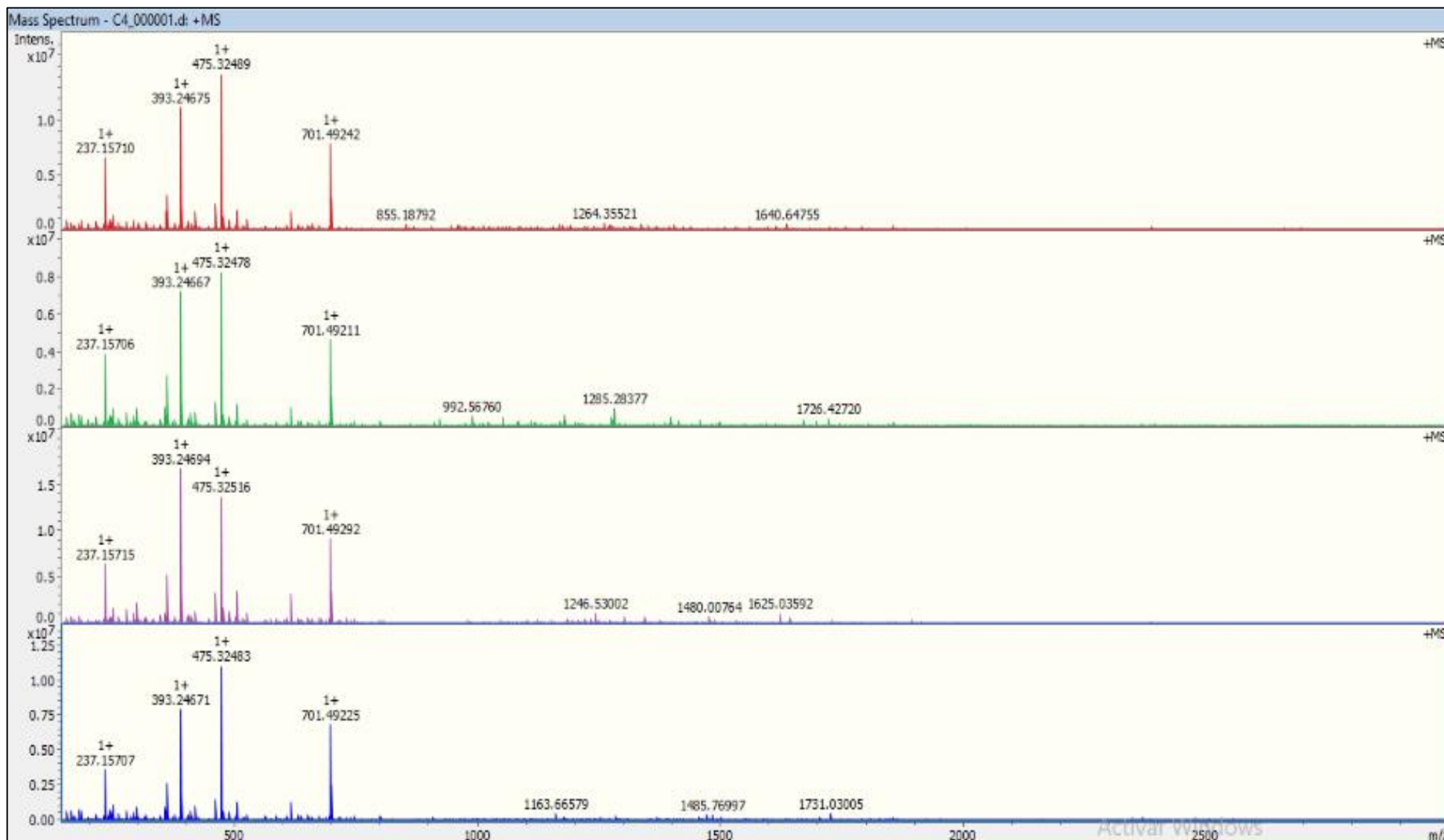
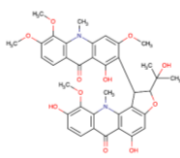
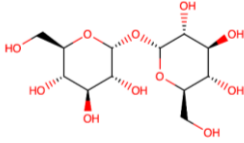
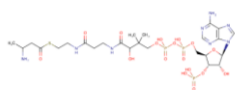
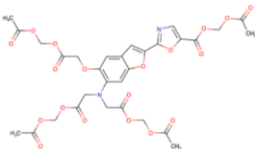
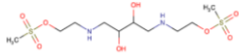


Figura 18. Espectro de metabolitos más abundantes encontrados en muestras coprológicas método PBS

Tabla 9. Metabolitos más abundantes encontrados en muestras de leche método MeOH: H2O			
NOMBRE	ESTRUCTURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIAS
<p>Citbismina C</p> <p>Fórmula química: C₃₇H₃₆N₂O₁₁</p> <p>PM: 684.6885 g / mol</p>		<p>La citbismina C es un compuesto perteneciente a la clase de acridones, que son acridinas con una cetona unida al átomo de carbono C9. Aunque se ha detectado en cítricos, aún no se ha cuantificado. Esto sugiere que podría ser un biomarcador útil para el consumo de cítricos.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Trehalosa</p> <p>Fórmula química: C₁₂H₂₂O₁₁</p> <p>PM: 342.2965 g / mol</p>		<p>La trehalosa, también conocida como mícosa, es un azúcar disacárido presente en la naturaleza en cantidades limitadas. Se cree que juega un papel en la anhidrobiosis, permitiendo a plantas y animales resistir la desecación prolongada al formar un gel que protege las células de daños durante la deshidratación y rehidratación. Su estructura resistente a la hidrólisis ácida y su capacidad para mantener los azúcares en forma de anillo cerrado la hacen estable en condiciones adversas. La enzima trehalasa la descompone en glucosa para su absorción intestinal. La trehalosa es importante en insectos como reserva de líquidos y en la respiración, además de ser un metabolito de Burkholderia, Escherichia y Propionibacterium.</p>	<p>(Habe et al., 2015)</p>
<p>L-3-Aminobutiril-CoA</p> <p>Fórmula química: C₂₅H₄₃N₈O₁₇P₃S</p> <p>PM: 852.639 g / mol</p>		<p>La L-3-Aminobutiril-CoA es un compuesto presente en la conversión de la lisina en acetato y butirato. Se forma a partir de una reacción entre (S)-5-amino-3-oxohexanoato y acetil-CoA, con acetoacetato como subproducto. Luego se descompone en amoníaco y crotonil-CoA gracias a la acción de la enzima 3-aminobutiril-CoA amoníaco-liasa.</p>	<p>(Simons & Toomre, 2000)</p>
<p>Ester Mag-fura-2-acetoximetil</p> <p>Fórmula química: C₃₀H₃₀N₂O₁₉</p> <p>PM: 722.565 g / mol</p>		<p>El éster de Mag-fura-2-acetoximetil, también llamado mag-fura-2-am, es un compuesto orgánico clasificado dentro de los ésteres de aminoácidos alfa. Aunque hay poca literatura sobre él, se ha identificado en la sangre humana en personas expuestas a este compuesto o a sus derivados. No es un metabolito natural y forma parte del exposoma humano, que abarca todas las exposiciones a lo largo de la vida de un individuo y su relación con la salud, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Lykurim</p> <p>Fórmula química: C₁₀H₂₄N₂O₈S₂</p> <p>PM: 364.43 g / mol</p>		<p>El 2-[(2,3-dihidroxi-4-[(2-(metanosulfonilo)etil]amino) butil) amino]etil metanosulfonato es un éster de ácido organosulfónico. Aunque hay poca literatura sobre este compuesto, se ha identificado en la sangre humana en personas expuestas a él o a sus derivados. No es un metabolito natural y forma parte del exposoma humano, que abarca todas las exposiciones a lo largo de la vida de un individuo y su relación con la salud, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>

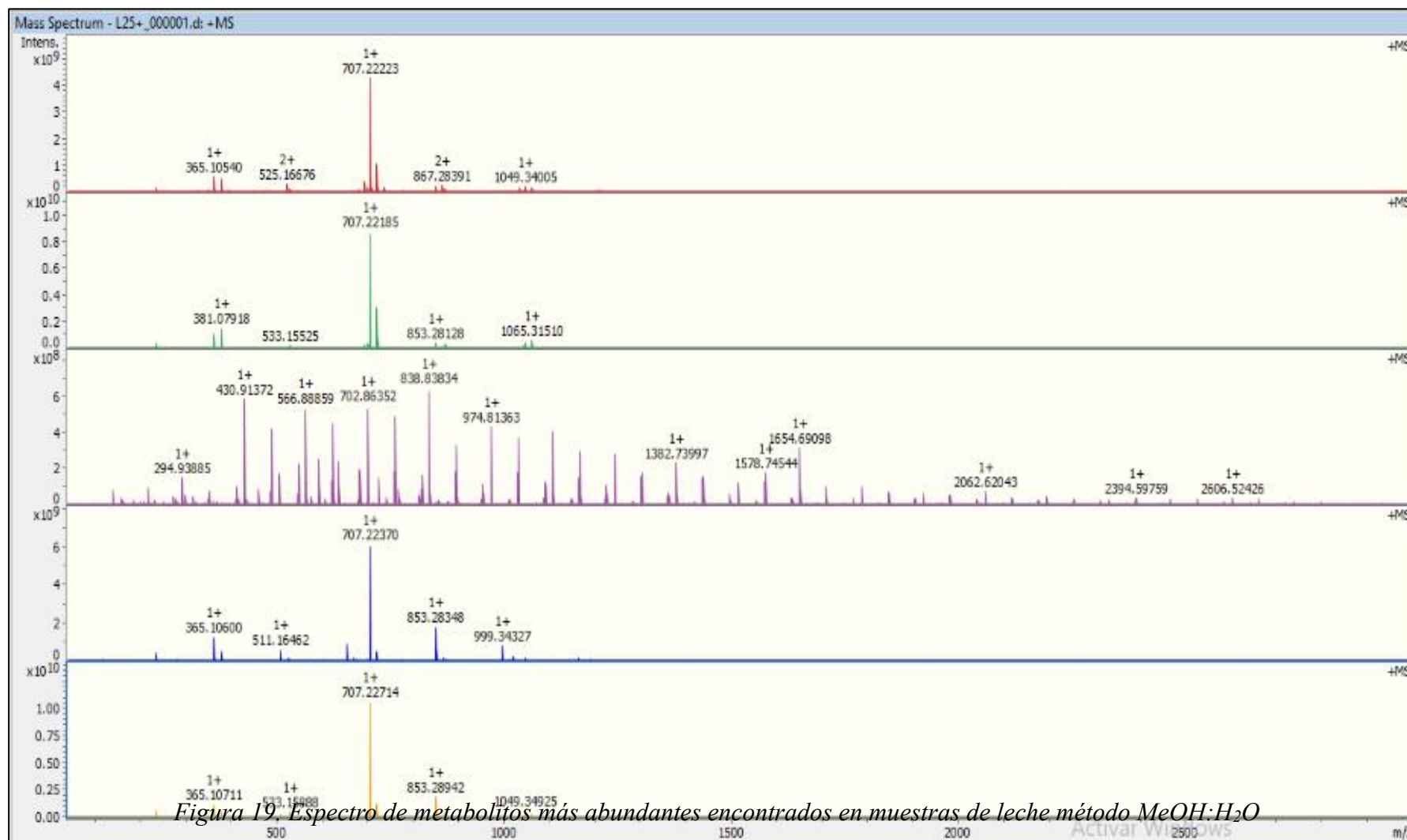
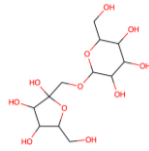

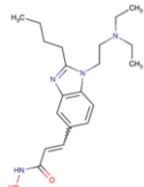
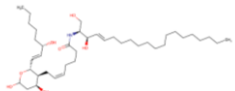
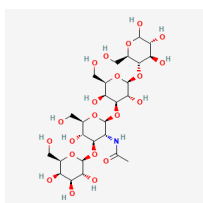


Figura 19. Espectro de metabolitos más abundantes encontrados en muestras de leche método MeOH:H₂O

Tabla 10. Metabolitos más abundantes encontrados en muestras de leche método MTBE			
NOMBRE	ESTRUCTURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIAS
<p>Trehalulosa</p> <p>Fórmula química: $C_{12}H_{22}O_{11}$</p> <p>PM: 684.6885 g / mol</p>		<p>La trehalulosa es un tipo de compuesto orgánico llamado compuesto O-glicosílico. Estos compuestos son glucósidos, lo que significa que contienen un grupo de azúcar unido a otro grupo a través de un enlace O-glucósido.</p>	<p>(Base de datos del metaboloma humano: muestra la metabocard de trehalulosa (HMDB0039727), s/f)</p>
<p>CDP-DG (16:0/20:3(5Z,8Z,11Z)-O(14R,15S))</p> <p>Fórmula química: $C_{47}H_{78}O_3$</p> <p>PM: 691.138 g / mol</p>		<p>El CDP-DG (16:0/20:3(5Z,8Z,11Z)-O(14R,15S)) es un tipo de CDP-diacilglicerol oxidado, que son glicerofosfolípidos con la citidina difosfato en lugar de un glicerol y con al menos una cadena de ácido graso oxidada. Estos compuestos tienen un papel en la señalización celular y pueden ser sintetizados por diferentes rutas en el cuerpo. En este caso particular, el CDP-DG (16:0/20:3(5Z,8Z,11Z)-O(14R,15S)) tiene un ácido graso hexadecanoilo en la posición C-1 y una cadena de 14,15-epoxiicosatrienoil en la posición C-2. Estos compuestos son importantes en la estructura y función de las membranas celulares y están involucrados en procesos metabólicos y de señalización.</p>	<p>(Hajeyah et al., 2020)</p>
<p>Pracinostat</p> <p>Fórmula química: $C_{20}H_{30}N_4O_2$</p> <p>PM: 358.486 g / mol</p>		<p>El ácido N-hidroxi3-{2-butyl-1-[2-(dietilamino)etil]-1H-1,3-benzodiazol-5-il}prop-2-enimídico, perteneciente a los benzimidazoles, es un compuesto poco estudiado que se ha identificado en la sangre humana. El pracinostat, una forma de este compuesto, no es natural y solo se encuentra en personas expuestas a él. Forma parte del exposoma humano, que abarca todas las exposiciones a lo largo de la vida de un individuo y su relación con la salud, incluyendo factores ambientales y ocupacionales desde antes del nacimiento.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Cer(d20:1/TXB2)</p> <p>Fórmula química: $C_{40}H_{73}NO_7$</p> <p>PM: 680.024 g / mol</p>		<p>Cer(d20:1/TXB2) es una ceramida oxidada, un tipo de esfingolípido esencial en las membranas celulares. Su metabolismo alterado se relaciona con enfermedades como la diabetes y el cáncer. Se sintetizan a partir de serina y palmitato o mediante la hidrólisis de esfingomielinas. Estas ceramidas pueden fosforilarse a fosfatos de ceramida, actuando como mediadores inflamatorios. Son cruciales en la señalización celular y en la biosíntesis de otros lípidos. Cer(d20:1/TXB2) tiene una base esfingoide de 20 carbonos y una cadena lateral de ácido graso, siendo vitales para la función celular y la salud.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>
<p>Lacto-N-tetraose</p> <p>Fórmula química: $C_{26}H_{45}NO_{21}$</p> <p>PM: 707.632 g / mol</p>		<p>La lacto-N-tetraosa (LNT), oligosacárido neutro presente en el calostro y la leche humana. Es convertida a lacto-N-triosa II por la enzima humana beta-1,3-N-acetil glucosaminil transferasa 2 (beta3GnT2). Los oligosacáridos de la leche humana son moléculas bioactivas que, aunque no tienen un valor nutritivo directo para el bebé, podrían ser sustratos para el desarrollo de la microflora intestinal y el sistema inmunitario de la mucosa.</p>	<p>(Barupal & Fiehn, 2019)</p>

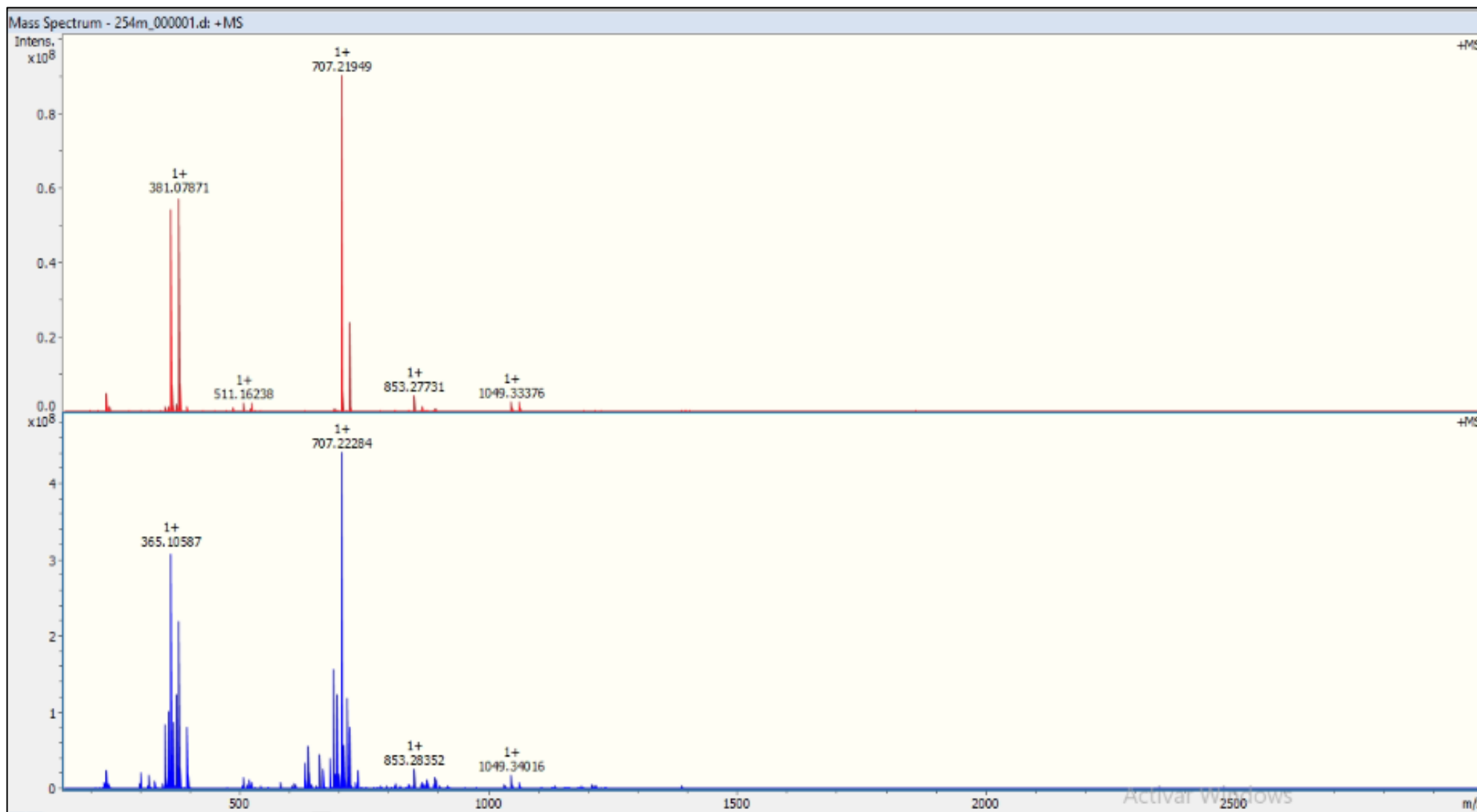


Figura 20. Espectro de metabolitos más abundantes encontrados en muestras de leche método MTBE

3.1 Análisis Comparativo

Para comparar las metodologías de extracción, se identificaron los metabolitos que eran comunes entre las muestras con la misma base biológica, pero extraídas con diferentes métodos. Esto permitió determinar cuáles metabolitos son consistentes a través de diversas técnicas de extracción. En la Figura 21, 22 y 23 se ilustra la absorbancia promedio de estos metabolitos, lo que facilita una comparación visual entre las muestras de la misma biología obtenidas mediante diferentes métodos. Se destaca que el método MeOH:H₂O muestra mayores niveles de absorbancia en la mayoría de las muestras evaluadas.

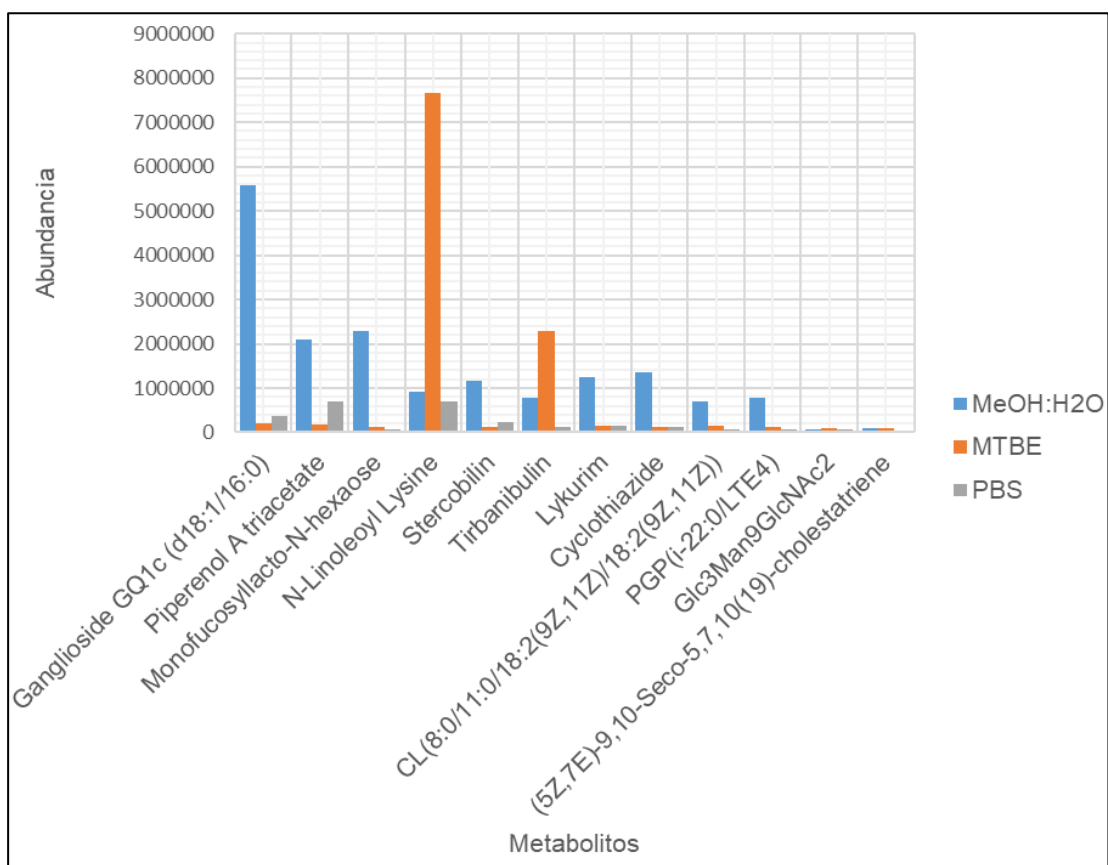


Figura 21. Absorbancia Promedio de Metabolitos de Meconio Extraídos Mediante Diferentes Metodologías

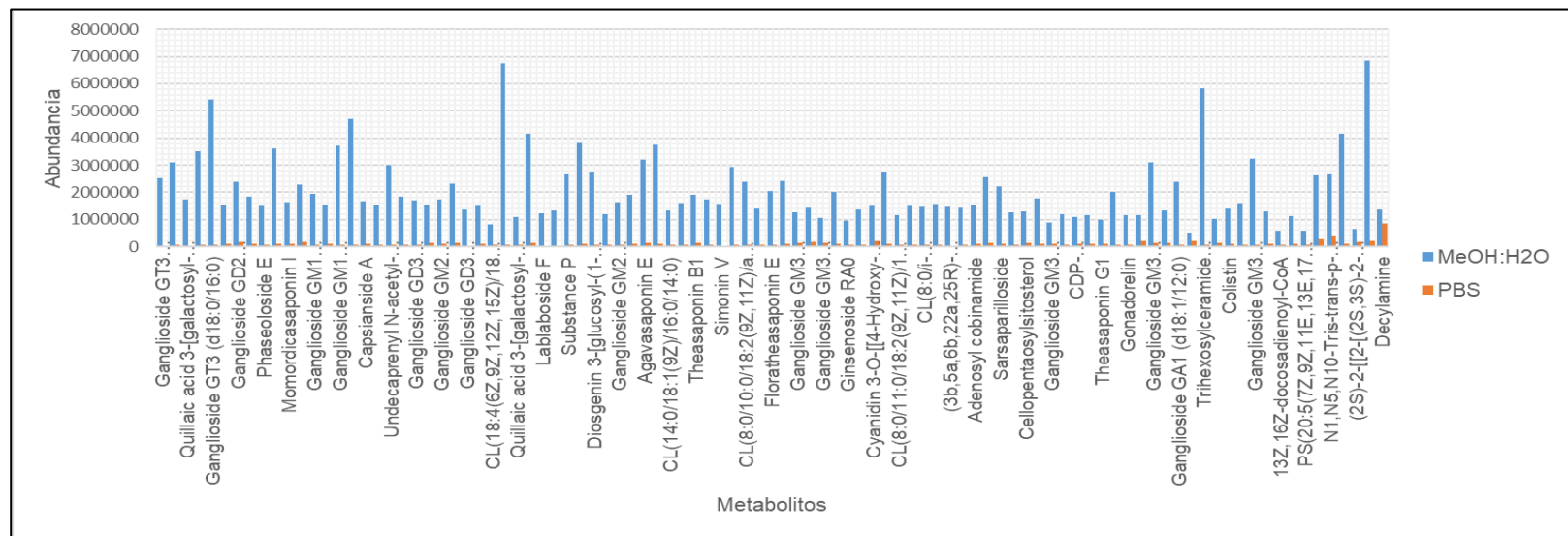


Figura 22. Absorbancia Promedio de Metabolitos de Muestras Coprológicas Extraídos Mediante Diferentes Metodologías

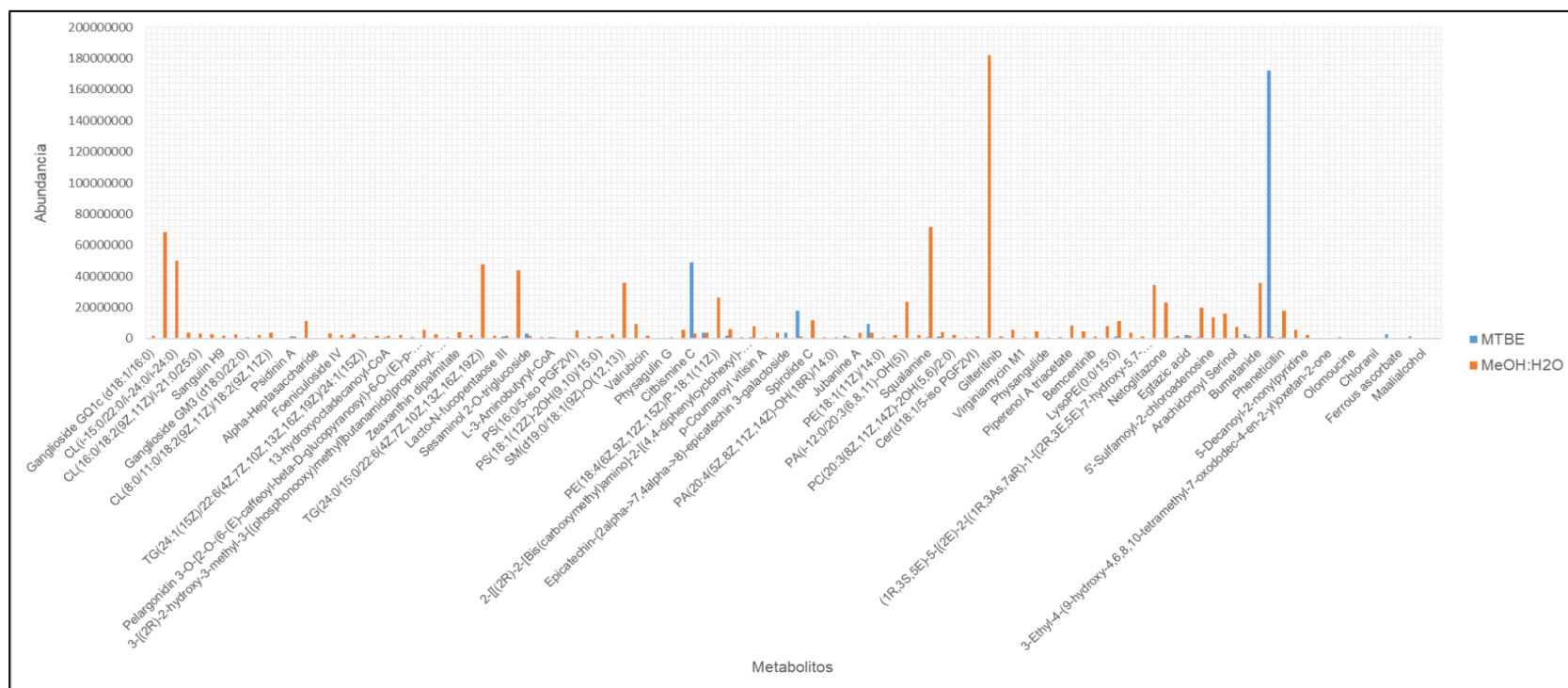


Figura 23. Absorbancia Promedio de Metabolitos de Leche Extraídos Mediante Diferentes Metodologías

4. Conclusión

Este proyecto ha demostrado avances sustanciales en la optimización de técnicas de extracción de metabolitos en matrices biológicas como el meconio, la leche materna y las muestras coprológicas, mediante la evaluación comparativa de tres métodos de extracción: PBS (solución salina tamponada con fosfatos), MTBE (metil ter-butil éter) y MeOH:H₂O (metanol:agua). Los resultados experimentales evidenciaron que el método MeOH:H₂O ofrece una eficiencia superior en la recuperación de metabolitos, superando significativamente a los métodos PBS y MTBE. En términos cuantitativos, MeOH:H₂O permitió la detección de un 43% más de metabolitos en muestras de meconio, un 72% más en muestras coprológicas y un 40% más en leche materna, lo que sugiere una mayor capacidad de extracción y una sensibilidad optimizada para la identificación de compuestos bioquímicos presentes en estas matrices.

El rendimiento superior del método MeOH:H₂O, en comparación con los otros métodos evaluados, no solo se refleja en la cantidad de metabolitos detectados, sino también en la mayor absorbancia promedio de los metabolitos comunes, lo que indica una eficacia elevada en la detección. Este método demostró ser particularmente robusto y versátil, lo cual es crucial para aplicaciones analíticas donde se requiere una alta sensibilidad y especificidad en la detección de metabolitos, especialmente en contextos de investigación biomédica y biotecnológica.

Además, este proyecto ha logrado establecer un protocolo analítico integral que incluye la cuantificación precisa de ácidos grasos de cadena corta (SCFAs) utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la identificación de metabolitos mediante espectrometría de masas. La capacidad de cuantificar SCFAs con alta precisión es de suma importancia, dado el papel fundamental de estos metabolitos en la fisiología humana y en la regulación de procesos relacionados con la microbiota intestinal. La implementación de la espectrometría de masas ha permitido una caracterización detallada de los metabolitos presentes en las diferentes matrices

biológicas analizadas, ampliando así el espectro de compuestos detectables y proporcionando una herramienta analítica potente para la investigación de procesos metabólicos complejos.

La combinación de técnicas avanzadas de HPLC y espectrometría de masas en el análisis de estas muestras biológicas ha permitido no solo una cuantificación precisa, sino también la identificación de metabolitos con alta sensibilidad, lo que es esencial para la comprensión de las interacciones metabólicas en el organismo y la identificación de posibles biomarcadores para la detección temprana de patologías. Los hallazgos obtenidos establecen una base sólida para la aplicación de estos métodos en investigaciones futuras, particularmente en el estudio del impacto del microbioma en la salud humana y en el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en la modulación de la microbiota.

En conclusión, el proyecto ha validado la superioridad del método MeOH:H₂O en la extracción de metabolitos, posicionándolo como la metodología preferida para estudios que requieren una detección exhaustiva y precisa en matrices biológicas complejas. Se recomienda la continuación de estudios que permitan la validación adicional de este método en otras matrices biológicas y en diferentes contextos experimentales, con el objetivo de consolidar su aplicabilidad y optimización en investigación biomédica y biotecnológica. Los resultados obtenidos tienen el potencial de influir significativamente en el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas, mejorando así la comprensión de los procesos metabólicos y su relación con la salud humana.

Bibliografía

- Amezcu López, J. A., Solís Pacheco, J. R., García Morales, E., Gutiérrez Padilla, J. A., Zepeda Morales, A. S. M., Angulo Castellanos, E., López Mincitar, M., Flores Arévalo, K. F., Rodríguez Arreola, A., Aguilar Uscanga, B. R., Amezcu López, J. A., Solís Pacheco, J. R., García Morales, E., Gutiérrez Padilla, J. A., Zepeda Morales, A. S. M., Angulo Castellanos, E., López Mincitar, M., Flores Arévalo, K. F., Rodríguez Arreola, A., & Aguilar Uscanga, B. R. (2019). Influencia de la dieta de mujeres mexicanas sobre la calidad nutricional y la presencia de microorganismos benéficos en la leche humana. *Nutrición Hospitalaria*, 36(5), 1139–1149. <https://doi.org/10.20960/nh.02477>
- Barupal, D. K., & Fiehn, O. (2019). Generating the Blood Exposome Database Using a Comprehensive Text Mining and Database Fusion Approach. *Environmental Health Perspectives*, 127(9), 097008. <https://doi.org/10.1289/EHP4713>
- Base de datos del metaboloma humano: Muestra la metabocard de trehalulosa (HMDB0039727). (s/f). Recuperado el 31 de mayo de 2024, de <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0039727>
- Conclusiones del 7º Foro Nacional de Lactancia Materna 2022. Animal Político. Recuperado el 16 de agosto de 2022, de <https://www.animalpolitico.com/pacto-por-la-primera-infancia/conclusiones-del-7o-foro-nacional-de-lactancia-materna-2022/>
- Corona-Cervantes, K., García-González, I., Villalobos-Flores, L. E., Hernández-Quiroz, F., Piña-Escobedo, A., Hoyo-Vadillo, C., Rangel-Calvillo, M. N., & García-Mena, J. (2020). Human milk microbiota associated with early colonization of the neonatal gut in Mexican newborns. *PeerJ*, 8, e9205. <https://doi.org/10.7717/peerj.9205>
- Guzior, D. V., & Quinn, R. A. (2021). Review: Microbial transformations of human bile acids. *Microbiome*, 9(1), 140. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01101-1>
- Habe, H., Sato, S., Morita, T., Fukuoka, T., Kirimura, K., & Kitamoto, D. (2015). Bacterial production of short-chain organic acids and trehalose from levulinic acid: A potential cellulose-derived building block as a feedstock for microbial production. *Bioresource Technology*, 177, 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.048>
- Hajeyah, A. A., Griffiths, W. J., Wang, Y., Finch, A. J., & O'Donnell, V. B. (2020). The Biosynthesis of Enzymatically Oxidized Lipids. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 591819. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.591819>
- Jiménez-Girón, A., Ibáñez, C., Cifuentes, A., Simó, C., Muñoz-González, I., Martín-Álvarez, P. J., Bartolomé, B., & Moreno-Arribas, M. V. (2015). Faecal Metabolomic Fingerprint after Moderate Consumption of Red Wine by Healthy Subjects. *Journal of Proteome Research*, 14(2), 897–905. <https://doi.org/10.1021/pr500960g>
- Juwana, Y. B., Suryapranata, H., Ottervanger, J. P., & Van 'T Hof, A. W. (2010). Tirofiban for myocardial infarction. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 11(5), 861–866. <https://doi.org/10.1517/14656561003690005>
- Knuplez, E., & Marsche, G. (2020). An Updated Review of Pro- and Anti-Inflammatory Properties of Plasma Lysophosphatidylcholines in the Vascular System. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 4501. <https://doi.org/10.3390/ijms21124501>

- Navarro-Estrella, M., Duque-López, M. X., & Trejo y Pérez, J. A. (2003). Factores que influyen en el abandono temprano de la lactancia por mujeres trabajadoras. *Salud Pública de México*, 45(4). <https://doi.org/10.1590/S0036-36342003000400006>
- Ortega Ibarra, E., Guzmán, A., Valdovinos, I., Reyes, K., Eleuterio, A., Medina, J., & Ortega-Ibarra, I. (2021). Microbiota intestinal en recién nacidos a término por parto natural y por cesárea. 10, 24–30.
- Quinn, R. A., Melnik, A. V., Vrbanc, A., Fu, T., Patras, K. A., Christy, M. P., Bodai, Z., Belda-Ferre, P., Tripathi, A., Chung, L. K., Downes, M., Welch, R. D., Quinn, M., Humphrey, G., Panitchpakdi, M., Weldon, K. C., Aksenov, A., Da Silva, R., Avila-Pacheco, J., ... Dorrestein, P. C. (2020). Global chemical effects of the microbiome include new bile-acid conjugations. *Nature*, 579(7797), 123–129. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2047-9>
- Simons, K., & Toomre, D. (2000). Lipid rafts and signal transduction. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 1(1), 31–39. <https://doi.org/10.1038/35036052>
- Sun, J.-K., Sun, F., Wang, X., Yuan, S.-T., Zheng, S.-Y., & Mu, X.-W. (2015). Risk factors and prognosis of hypoalbuminemia in surgical septic patients. *PeerJ*, 3, e1267. <https://doi.org/10.7717/peerj.1267>
- Torres-Montalvo, A., Suárez-Conejero, J. E., & Cerros-Aristorena, M. R. (2020). Perspectiva de mujeres mexicanas sobre lactancia materna asociada al cambio del modelo cultural. *Enfermería universitaria*, 17(2), 148–161. <https://doi.org/10.22201/eneo.23958421e.2020.2.767>
- Wernly, B., Lichtenauer, M., Hoppe, U. C., & Jung, C. (2016). Hyperglycemia in septic patients: An essential stress survival response in all, a robust marker for risk stratification in some, to be messed with in none. *Journal of Thoracic Disease*, 8(7), E621–E624. <https://doi.org/10.21037/jtd.2016.05.24>
- Wishart, D. S., Tzur, D., Knox, C., Eisner, R., Guo, A. C., Young, N., Cheng, D., Jewell, K., Arndt, D., Sawhney, S., Fung, C., Nikolai, L., Lewis, M., Coutouly, M.-A., Forsythe, I., Tang, P., Shrivastava, S., Jeroncic, K., Stothard, P., ... Querengesser, L. (2007). HMDB: The Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Research*, 35(Database), D521–D526. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl923>