

Micronutrientes antioxidantes en leche materna madura de dos grupos indígenas venezolanos

Resumen

Fundamento: La leche materna por su contenido de micronutrientes representa el alimento ideal para el neonato en las defensas del organismo contra los radicales libres. Nuestro objetivo fue determinar el contenido de micronutrientes antioxidantes en leche materna madura de mujeres perteneciente a dos grupos indígenas de la región zuliana.

Materiales y métodos: Se colectaron 68 muestras de leche materna Bari y 65 muestras de Wayuú. Con propósitos comparativos se tomaron 76 muestras de leche de mujeres no indígenas. Las concentraciones totales de cobre y zinc fueron determinadas mediante espectrometría de absorción atómica. La vitamina C se cuantificó por el método del ácido fosfotúngstico. Los datos fueron analizados mediante las pruebas de ANOVA y Tukey (SPSS 12.0).

Resultados: Los resultados obtenidos mostraron variaciones significativas entre los grupos ($p < 0.05$). Los valores de cobre fueron más bajos en leche materna Bari (0.12 ± 0.02 mg/L), cuando se comparó con las no indígenas (0.34 ± 0.04 mg/L) ($p < 0.05$), pero fue estadísticamente similar al grupo Wayuú (0.21 ± 0.03 mg/L). El zinc se encontró a concentraciones más bajas en las Bari (0.66 ± 0.07 mg/L) en comparación con las leches de Wayuú (2.63 ± 0.43 mg/L) y no indígenas (2.17 ± 0.34 mg/L) ($p < 0.05$). El contenido de vitamina C fue significativamente más bajo en las Bari (5.81 ± 1.62 mg/L) y Wayuú (5.83 ± 3.24 mg/L) vs. el grupo control (35.66 ± 15.94 mg/L) ($p < 0.05$).

Conclusiones: Se observó una importante disminución de los micronutrientes analizados en las muestras de leche materna madura Bari y Wayuú, lo que pudiera causar deficiencia de estos antioxidantes en los niños que reciben lactancia materna exclusiva.

Palabras clave: Leche materna madura. Micronutrientes antioxidantes. Radicales libres. Grupos indígenas.

Summary

Background: Breast milk micronutrient content represents the ideal food for the baby in the body's defenses against free radicals. Our objective was to determine the micronutrient content of antioxidants in mature breast milk of women belonging to two indigenous groups in the Zulia region.

Materials and methods: We collected 68 samples of breast milk and 65 samples Bari Wayuú. For comparative purposes were taken 76 samples of milk from non-indigenous women. The total concentrations of copper and zinc were determined

by atomic absorption spectrometry. Vitamin C was quantified by phosphotungstic acid method. The data were analyzed using the ANOVA and Tukey tests (SPSS 12.0).

Results: The results showed significant variations between groups ($p < 0.05$). Copper values were lower in breast milk Bari (0.12 ± 0.02 mg / L), when compared with non-indigenous (0.34 ± 0.04 mg / L) ($p < 0.05$) but was statistically similar to Wayuú group (0.21 ± 0.03 mg / L). Zinc is found at lower concentrations in Bari (0.66 ± 0.07 mg / L) compared with Wayuú milks (2.63 ± 0.43 mg / L) and non-indigenous (2.17 ± 0.34 mg / L) ($p < 0.05$). The content of vitamin C was significantly lower in Bari (5.81 ± 1.62 mg / L) and Wayuu (5.83 ± 3.24 mg / L) vs. the control group (35.66 ± 15.94 mg / L) ($p < 0.05$).

Conclusions: We observed a significant reduction in micronutrients analyzed in mature breast milk samples and Wayuú Bari, which could cause a deficiency of these antioxidants in children who are exclusively breastfed.

Key words: Mature breast milk. Micronutrient antioxidants. Free radicals. Indigenous groups.

Introducción

La composición de la leche de cada especie está específicamente adaptada a las características digestivas y a las necesidades nutricionales de la cría en el periodo de la lactancia. Por sus características y composición únicas e inigualables justifican que se promoció y defiende la lactancia natural^{1,2}. Las recomendaciones internacionales abogan por la lactancia materna exclusiva durante los seis primeros meses de vida del infante, y complementada con otros alimentos hasta los 2 años^{3,4}.

La leche materna es una sustancia biológicamente activa que contiene numerosos principios orgánicos, para suplir en cantidad y calidad las necesidades calóricas y nutricionales del ser humano en el periodo de inmadurez de sus órganos y sistemas excretores; aporta nutrientes de óptima calidad, incluyendo macronutrientes, micronutrientes, y otras sustancias biológicamente activas⁵⁻⁸.

Eduard Maury-Sintjago^{1,2}
Jorge Martínez-Ugas¹
Alfonso Bravo-Henríquez¹
Elda Martínez-García¹

¹Laboratorio de Investigaciones en Nutrición y Desarrollo
Universidad del Zulia
²Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile

Correspondencia:
Eduard Maury Sintjago
INTA, U de Chile.
Av. El Líbano 5524
Macul, Santiago de Chile
E-mail: eduard.maury@inta.uchile

Entre los micronutrientes, tienen particular importancia aquellos que actúan como antioxidantes naturales en el organismo inhibiendo la tasa de oxidación de los radicales libres. Las vitaminas C, E y A, así como el Beta-caroteno, precursor de la vitamina A, y los minerales como selenio, cobre y zinc, son potentes antioxidantes que provienen de fuentes exógenas como los alimentos y están también presentes en la leche materna⁹⁻¹¹.

La capacidad protectora de la leche humana se debe a un complejo sistema de defensa muy distinto a lo descrito en la leche de otros mamíferos, contiene todos los constituyentes antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos antes mencionados, pudiendo entonces ayudar a eliminar los radicales libres de oxígeno en el niño lactante¹²⁻¹⁵.

Son numerosas las investigaciones relacionadas con la composición de la leche humana en mujeres de diferentes países y grupos sociales¹⁶⁻²⁰. En Venezuela, se han estudiado las variaciones temporales en la composición y aporte de macronutrientes y minerales en leche materna²¹⁻²³. Sin embargo, son escasas las referencias sobre el contenido de nutrientes en la leche materna de grupos étnicos locales²⁴.

En la región zuliana existen varios grupos indígenas, algunos de los cuales están ampliamente distribuidos por todo el territorio. Entre ellos se encuentran los Wayuú, quienes constituyen la etnia más numerosa del país; hoy día existen más de 168.037 Wayuú en la región. La etnia Barí, por su parte, se localiza en las montañas y tierras fértiles de la Sierra de Perijá, en los límites entre Venezuela y Colombia; para 1992 su población se estimó en 1.520 individuos, todos residentes en el Estado Zulia²⁵.

En las etnias indígenas generalmente la lactancia materna es de forma exclusiva, con una duración usualmente más prolongada²⁶, ya que las condiciones de pobreza en las que se encuentran muchas de estas familias limitarían el acceso a otros alimentos^{27,28}. Por lo tanto, en las poblaciones Barí y Wayuú es probable que al menos durante el primer semestre de vida del niño la leche materna constituya la única fuente de moléculas bioactivas que contrarresten los efectos nocivos de los radicales libres. No existen antecedentes en relación al contenido de sustancias antioxidantes en leche materna de indígenas o sobre los efectos de los radicales libres en la calidad de vida de los miembros de estas etnias.

El objetivo de la presente investigación fue determinar el contenido de micronutrientes antioxidantes (cobre, zinc, vitamina C) en leche materna madura de mujeres perteneciente a dos etnias de la región zuliana. El estudio permitirá conocer las concentraciones de

estos componentes en leche humana y discutir su participación en los mecanismos que mantienen un adecuado balance oxidación/antioxidación en el recién nacido lactante, ante una posible agresión mediada por los radicales libres.

Materiales y métodos

Diseño de estudio

El tipo de estudio fue de tipo descriptivo, comparativo y de corte transversal.

Población y muestra

La población estudio estuvo representada por mujeres Barí y Wayuu residentes de asentamientos indígenas del Estado Zulia y las mujeres no indígenas (grupo control) estuvo representadas por aquellas que asistían a la consulta de niños sanos del hospital "Chiquinquirá" de la ciudad de Maracaibo. Se colectaron un total de 209 muestras de leche, distribuidas de la siguiente manera: 68 Barí, 65 Wayuú y 76 controles. En el presente estudio participaron mujeres con edades comprendidas entre los 17 y 35 años y un período de lactancia mayor de 15 días, mujeres indígenas sin mestizaje durante al menos tres generaciones, con estado nutricional antropométrico normal o sobrepeso, parto a término, sin ninguna enfermedad aguda o crónica reportada y que no estuvieran consumiendo suplementos minerales o vitamínicos. Con excepción del mestizaje, estas premisas se cumplieron también en el caso de las mujeres lactantes no indígenas. Todas las mujeres participantes en el estudio manifestaron su consentimiento en forma escrita u oral. Los procedimientos empleados fueron ejecutados de acuerdo con las normas éticas de la declaración de Helsinki y CIOMS²⁹.

Evaluación antropométrica

Se midió el peso (Kg) y la talla (cm) de las mujeres Barí, Wayuu y no indígenas, mediante procedimientos normalizados. Con ambas mediciones se calculó el IMC utilizando la clasificación propuesta por la OMS^{30,31}.

Obtención de las muestras de leche materna madura

Todos los muestreos fueron realizados en horario matutino (9:00-11:00 am). Para obtener las muestras

de leche, se utilizó un procedimiento referido como "extracción manual". Esta zona se limpió previamente con agua desionizada estéril. Se procedió a extraer del seno materno de 1-5 ml de leche madura. Las muestras se depositaron directamente en tubos de polipropileno estériles y químicamente limpios, para luego ser almacenadas de manera higiénica a una temperatura de -20°C hasta el momento de efectuar los análisis químicos.

Procesamiento de las muestras para absorción atómica

Las muestras de leche materna fueron previamente mineralizadas en dispositivos de digestión tipo Parr³², empleando HNO_3 con la finalidad de disminuir las posibles interferencias espectrales durante el análisis por absorción atómica. Las bombas fueron mantenidas en estufa a una temperatura de 110°C , por 4 horas. Finalmente, las muestras digeridas se diluyeron en balones aforados de 5 ml, con agua bidestilada y desionizada.

Determinación de cobre y zinc

Las muestras para la determinación de Cu y Zn fueron analizadas mediante espectrometría de absorción atómica con llama, empleando un equipo Perkin Elmer Modelo 3100. Las concentraciones de Cu y Zn se expresaron en mg/L de leche. Como valores de referencia se tomaron los niveles de 0,35 mg/L de Cu^{35} y 1-3 mg/L de Zn^{33} .

Determinación de la vitamina C (Ácido Ascórbico)

El ácido ascórbico (mg/L) se cuantificó con el método propuesto por Rutkowski³⁴, empleando el reactivo del ácido fosfotungstíco (PTR). Al momento de tomar las muestras de leche, alícuotas de 350 μl fueron estabilizadas con igual volumen de ácido metafosfórico (HPO_3) 1,8 M en ácido acético (CH_3COOH) 1,3 M y luego se almacenaron a -20°C . Durante la determinación, se mezcló iguales volúmenes de las muestras estabilizadas y del reactivo PTR, centrifugando luego a 3500 r.p.m. y la absorbancia del sobrenadante se midió en un espectrofotómetro digital (Spectro UV-VIS Rs, LaboMed, Inc.) a 700 nm. Se elaboró una curva estándar con diluciones obtenidas a partir de un stock de ácido ascórbico 56,8 $\mu\text{mol/L}$. Las concentraciones de vitamina C se expresaron en mg/L de leche. Como valor de referencia se tomó un nivel de 40 mg/L reportado en leche humana madura³⁵.

Cálculo del porcentaje de adecuación (%ADE)

Las concentraciones de Zn, Cu y vitamina C (mg/L) fueron transformadas en mg/día, multiplicando el contenido promedio de cada micronutriente en 1 ml de leche materna madura por un volumen de 850 ml de leche (correspondiente al volumen promedio reportado de leche ingerida diariamente por un lactante durante los primeros 6 meses de vida)³⁶. Con estos valores y considerando una recomendación diaria de 0,55 mg de Cu, 5 mg de Zn y 32,5 mg de Vitamina C en niños de 0-6 meses³⁷, se estimó el porcentaje de adecuación (%ADE), utilizando la ecuación:

$$\%ADE = \frac{\text{Ingesta diaria del nutriente} \times 100}{\text{Recomendación diaria para el nutriente}}$$

Para efectos de esta investigación el porcentaje de adecuación fue evaluado en intervalos de acuerdo a las siguientes categorías o puntos de corte: deficiente $<90\%$; normal 90-110%; exceso $>110\%$ ³⁸.

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa SPSS (12.0 versión). Los datos se expresaron según el promedio \pm el error estándar o porcentajes. La distribución normal de los resultados fue determinada con la prueba de Shapiro-Wilks. Se aplicó la prueba del análisis de varianza (ANOVA), con la finalidad de detectar posibles variaciones en los promedios para cada parámetro en estudio. La prueba de comparación post hoc de Tukey permitió establecer diferencias particulares entre pares de grupos étnicos. Los resultados se consideraron significativos a un valor de $p < 0,05$.

Resultados

En la Tabla 1, se presentan las características generales de las mujeres en estudio. Para la edad no se encontraron diferencias entre los grupos. Las variaciones significativas en el resto de los parámetros antropométricos y demográficos son atribuidas a diferencias entre las etnias indígenas y no indígenas ($p < 0,05$). El peso y el IMC fueron significativamente más bajos en las mujeres Wayúú, mientras que la talla de las mujeres Barí resultó la más baja ($p < 0,05$). El número de partos y el tiempo de lactancia fueron significativamente inferiores en las mujeres no indígenas ($p < 0,05$), pero sin diferencias entre las mujeres indígenas.

La Tabla 2 muestra los resultados del contenido de cobre, el cual se encontró en más baja concentración en la leche materna Barí (0,12 ± 0,02 mg/L) y Wayuú (0,21 ± 0,03 mg/L), en comparación con el grupo control (0,34 ± 0,04 mg/L) ($p < 0,05$), pero sin diferencias estadísticas entre las Barí y Wayuú. El aporte diario de cobre fue más bajo en la leche materna de las mujeres Barí aunque no hubo diferencia con las Wayuú. Sin embargo, en todos los grupos la leche contenía cantidades inadecuadas de este mineral, cubriendo entre un 18,18% y 52,72% de los requerimientos diarios para un lactante.

La concentración del zinc fue significativamente más baja en las muestras de leche materna Barí (0,66 ± 0,07 mg/L), en comparación con las Wayuú

(2,63 ± 0,44 mg/L) y no indígenas (2,26 ± 0,31 mg/L) ($p < 0,05$). No se encontraron diferencias estadísticas entre las Wayuú y no indígenas. La leche materna Barí aportó la cantidad más baja de zinc, pero en todos los grupos el contenido de este mineral no se adecuó al requerimiento diario de un lactante, oscilando entre 11,20% al 44,80% de adecuación (Tabla 3).

En la Tabla 4 aparece el contenido de ácido ascórbico (vitamina C) en leche materna, evidenciándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en las mujeres Barí (5,81 ± 1,62 mg/L) y Wayuú (5,83 ± 3,24 mg/L) en comparación con las no indígenas (35,66 ± 15,94 mg/L). No se encontraron diferencias significativas entre las mujeres Barí y Wayuú.

Tabla 1. Características generales de las mujeres pertenecientes a los diferentes grupos étnicos

Parámetro	Barí (n=68)	Wayuú (n=65)	No indígenas (n=76)
Edad (años)	27,04 ± 1,55 ^a	29,53 ± 1,71 ^a	25,00 ± 0,56 ^a
Peso (Kg)	54,32 ± 1,52 ^a	49,81 ± 2,24 ^a	63,06 ± 1,99 ^b
Talla (cm)	145,36 ± 0,78 ^a	150,67 ± 2,07 ^b	157,21 ± 1,30 ^c
IMC (Kg/m ²)	25,20 ± 0,61 ^a	21,13 ± 0,29 ^b	25,61 ± 0,78 ^a
Paridad	5 ± 1 ^a	5 ± 1 ^a	2 ± 1 ^b
Tiempo de lactancia (meses)	5,79 ± 0,70 ^a	5,41 ± 0,58 ^a	3,08 ± 0,20 ^b

Los resultados corresponden al promedio ± el error estándar. ^{a,b,c} Valores con letras distintas en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 2. Contenido de cobre en leche materna madura de los grupos en estudio

Parámetro	Barí (n=68)	Wayuú (n=65)	No indígenas (n=76)
Cu (mg/L)	0,12 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,03 ^a	0,34 ± 0,04 ^b
Cu (mg/día)†	0,10 ± 0,02 ^a	0,19 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,03 ^b
%ADE	18,18	34,54	52,72

Los resultados corresponden al promedio ± el error estándar o porcentajes. ^{a,b} Valores con letras distintas en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0,05$). † Utilizando un volumen de leche de 850 ml³⁶. %ADE indica el porcentaje de adecuación del nutriente, basado en la recomendación promedio de 0,55 mg Cu/día para niños de 0-6 meses³⁷.

Tabla 3. Contenido de zinc en leche materna madura de los grupos en estudio

Parámetro	Barí (n=68)	Wayuú (n=65)	No indígenas (n=76)
Zn (mg/L)	0,66 ± 0,07 ^a	2,63 ± 0,44 ^b	2,26 ± 0,31 ^b
Zn (mg/día)†	0,56 ± 0,06 ^a	2,24 ± 0,37 ^b	1,92 ± 0,26 ^b
%ADE	11,20	44,80	38,40

Los resultados corresponden al promedio ± el error estándar o porcentajes. ^{a,b} Valores con letras distintas en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0,05$). † Utilizando un volumen de leche de 850 ml³⁶. %ADE indica el porcentaje de adecuación del nutriente, basado en la recomendación promedio de 5 mg Zn/día para niños 0-6 meses³⁷.

Tabla 4. Contenido de vitamina C en leche materna madura de los grupos en estudio

Parámetro	Barí (n=68)	Wayuú (n=65)	No indígenas (n=76)
Vitamina C (mg/L)	5,81 ± 1,62 ^a	5,83 ± 3,24 ^a	35,66 ± 15,94 ^b
Vitamina C (mg/L)	5,81 ± 1,62 ^a	5,83 ± 3,24 ^a	35,66 ± 15,94 ^b
Vitamina C (mg/día)†	4,94 ± 1,38 ^a	4,96 ± 2,75 ^a	30,31 ± 13,55 ^b
%ADE	15,20	15,26	93,26
Vitamina C (mg/día)†	4,94 ± 1,38 ^a	4,96 ± 2,75 ^a	30,31 ± 13,55 ^b
%ADE	15,20	15,26	93,26

Los resultados corresponden al promedio ± el error estándar o porcentajes. ^{a,b} Valores con letras distintas en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0,05$). † Utilizando un volumen de leche de 850 ml³⁶. %ADE indica el porcentaje de adecuación del nutriente, basado en la recomendación promedio de 32,50 mg/día para niños 0-6 meses³⁷.

El aporte diario de vitamina C fue muy bajo para la leche materna de las mujeres Barí y Wayuú, cubriendo el 15,20% y 15,26% de las recomendaciones, respectivamente, pero la cantidad de vitamina C en la leche de las mujeres no indígenas fue adecuada a las recomendaciones para un lactante.

Discusión

En el presente estudio, las concentraciones de cobre en las muestras de leche materna madura de mujeres Barí ($0,12 \pm 0,02$ mg/L) y Wayuú ($0,21 \pm 0,03$ mg/L) fueron inferiores al valor considerado normal para leche humana³⁵. En el grupo no indígena ($0,34 \pm 0,04$ mg/L), este mineral se detectó en un orden de magnitud similar a la cifra de referencia. En la literatura internacional se han publicado valores de $0,3 \pm 0,2$ mg/L en leche materna madura de una población de mujeres pertenecientes a la etnia indígena Navajo³⁹. Sin embargo, al igual que en la leche de mujeres Barí, otros autores reportan concentraciones muy bajas de Cu en leche materna de mujeres procedentes de Honduras y Suecia ($0,16 \pm 0,21$ mg/L y $0,12 \pm 0,22$ mg/L, respectivamente)¹⁸.

Con respecto al zinc, se encontró que el contenido del mineral en la leche de las mujeres Barí ($0,66 \pm 0,07$ mg/L) fue significativamente menor cuando se comparó con la leche Wayuú ($2,63 \pm 0,44$ mg/L) y no indígena ($2,26 \pm 0,31$ mg/L). En la leche Barí este valor fue más bajo que el rango tomada como referencia en leche materna madura³⁷. Concentraciones en el mismo orden de magnitud a las observadas en leche Wayuú y no indígena, fueron descritas en leche madura de mujeres pertenecientes a la etnia Navajo³⁹, y en otros estudios sobre niveles de Zn en leche humana de término⁴⁰.

Las concentraciones de Zn y Cu particularmente bajas detectadas en el grupo Barí y los valores bajos de Cu en leche de mujeres Wayuú afectarían también la actividad de otros antioxidantes de la leche, incluyendo la enzima superóxido dismutasa (SOD) que requiere de ambos minerales como cofactores. Esta enzima tiene un efecto protector contra la oxidación lipídica y el estrés oxidativo¹⁴.

Por otra parte, los resultados sobre el contenido de vitamina C (como ácido ascórbico) evidenciaron concentraciones significativamente menores en la leche madura de las mujeres indígenas Barí y Wayuú ($5,81 \pm 1,62$ mg/L y $5,83 \pm 3,24$ mg/L, respectivamente), mientras que en la leche de mujeres no indígenas fue de $35,66 \pm 15,94$ mg/L. Sólo en este último grupo la vitamina C se acercó al valor de referencia en leche madura³⁵ y a las concentraciones reportadas en otras investigaciones^{41,42}. La concentración de vitamina C de la leche humana es afectada por diferentes factores, pero el más importante es el estado nutricional de la madre⁴³, lo que supone una baja ingesta de alimentos fuentes de esta vitamina en las indígenas Barí y Wayuú. Se ha reportado que la vitamina C a bajas concentraciones incrementaría el efecto catalítico del hierro y del cobre, actuando como un prooxidante⁴⁴. De acuerdo con la reacción de Fenton, la vitamina C, el hierro ferroso y en presencia de oxígeno, con un sustrato lipídico presente en la leche, formaría especies reactivas del oxígeno⁴⁵.

Cuando se calcularon los requerimientos de ingesta diaria, se observó que la leche materna de los grupos indígenas Barí y Wayuú aportaba cantidades inadecuadas de Cu, Zn y vitamina C, y en todos los casos fue inferior al 50% de las RID respectivas. Solamente la leche madura del grupo no indígena aportó cantidades óptimas de vitamina C, pero también resultó deficiente en los minerales en estudio.

Los hallazgos del presente estudio resultan importantes, ya que las bajas concentraciones de micronutrientes como el Cu, Zn y la vitamina C afectarían el potencial antioxidante de la leche madura de las madres indígenas, disminuyendo por lo tanto su efecto protector en el recién nacido que recibe lactancia materna exclusiva. Estos componentes analizados en la leche humana constituyen elementos esenciales para la vida, puesto que son indispensables para contrarrestar la acción de los nocivos radicales libres sobre aquellas moléculas que hacen posible el crecimiento y desarrollo óptimo del neonato.

Bibliografía

1. Hamosh M. Human milk. Division of developmental biology and nutrition. Washington DC: University Medical Center. *Department of Pediatric at Georgetown*, 1996:1-9.
2. Hendricks KM, Badruddin SH. Weaning recommendations: the scientific basis. *Nutr. Rev.* 1992;50:125-133.
3. Hernández Aguilar MT. Epidemiología de la lactancia materna. Prevalencia y tendencias de la lactancia materna en el mundo y en España. En: Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría. *Lactancia Materna: guía para profesionales*. Monografías de la A.E.P. 2004;(5):31.
4. UNICEF. Lactancia materna [Accedido 2006 Junio 10]. Disponible en: http://www.unicef.org/spanish/special-session/about/sgreportdf/14_Breastfeeding_D7341Insert_Spanish.pdf.
5. Macías SM, Rodríguez S, Ronayne de Ferrer PA. Leche materna: composición y factores condicionantes de la lactancia. *Arch. Argent. Pediatr.* 2006;104(5):423-430.
6. Prentice A. Constituents of human milk. *Food Nutr. Bull.* 1996; 17:305-315.
7. Mahan LK, Escott SS. *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. (10ª edición). México DF (Mexico): Editorial Mc Graw Hill, 1998.
8. Granot E, Kohen R. Oxidative stress in childhood in health and disease states. *Clin. Nutr.* 2004;23:3-11.
9. Gutiérrez Venéreo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revistas Medica Cubanas*, 2002;31(2):5-20.
10. Alonso P, Salucci M, Lázaro R, Malani G, Ferro-Luzzi A. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Revistas Medicas Cubana* 1991; 13(2):104-11.
11. Riaño I, Lasarte J., Temboury M, Paricio J. *Lactancia Materna: Guía para profesionales*, (5ª edición), Barcelona, (España): Editorial Ergon, 2004.
12. Buescher ES. Anti-inflammatory characteristics of human milk: how, where, why. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2001;501:207-22.
13. Goldman AS, Goldblum RM, Hanson KA. Anti-inflammatory systems in human milk. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1990;262:69-76.
14. Friel JK, Martin SM, Langdon M, Herzberg GR, Buettner GR. Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formula. *Pediatr. Res.* 2002;51:612-618.
15. Aycicek A, Erel O, Kocyigit A, Selek S, Demirkol MR. Breast milk provides better antioxidant power than does formula. *Nutrition* 2006;22:616-619.
16. Goes HC, Torres AG, Donangelo CM, Trugo NM. Nutrient composition of banked human milk in Brazil and influence of processing on zinc distribution in milk fractions. *Nutrition*. 2002;18:590-594.
17. Panpanich R, Vitsapakorn K, Harper G, Brabin B. Serum and breast-milk vitamin A in women during lactation in rural Chiang Mai, Thailand. *Ann. Trop. Paediatr.* 2002;22:321-324.
18. Domellöf M, Lönnerdal B, Dewey K, Cohen RJ, Hernell O. Iron, zinc, and copper concentrations in breast milk are independent of maternal mineral status. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004;79:111-115.
19. Yamawaki N, Yamada M, Kan-no T, Kojima T, Kaneko T, Yonekubo A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese woman. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2005;19:171-181.
20. Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA. Evaluation of the vitamin status in nursing women by vitamin content in breast milk. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2006;141: 323-327.
21. Carias D, Velásquez G, Cioccia A, Piñeiro D, Inicarte H, Hevia P. Variaciones temporales en la composición y aporte de macronutrientes en minerales en leches maternas de mujeres venezolanas. *Arch. Latinoam. Nutr.* 1997;47:110-117.
22. Itriago A, Carrión N, Fernández A, Puig M, Dini E. Zinc, copper, iron, calcium, phosphorus and magnesium content of maternal milk during the first 3 weeks of lactation. *Arch Latinoam Nutr.* 1997;47(1):14-22.
23. Maury-Sintjago E, Hernández-García E, Bravo-Henríquez A, Martínez-Ugas J. Minerales bioesenciales en leche materna madura de indígenas Barí. *Antropo* 2011; 24:9-19.
24. Villalobos de Rivero E, Parra Soto H, Vera de Soto D. Comparación en la composición de macronutrientes en la leche de madres guajiras y no guajiras. *Archivos Latinoamericanos de Puericultura y Pediatría*, 2001; 64(1):24-36.
25. OCEI Oficina Central de Estadística e Informática 1993. *Censo Indígena de Venezuela*. Caracas Venezuela 1993.
26. Freitez A. "El rol de la educación en el marco de las teorías de la fecundidad: análisis de sus argumentos",

- en Temas de Coyuntura, N° 39. Venezuela: Instituto de Investigaciones Sociales y Económicas. Universidad Católica Andrés Bello 1999.
27. Diez-Ewald M, Torres-Guerra E, Layrisse M, Leets I, Vizcaino G, Arteaga-Vizcaino M. Prevalence of anemia, iron, folic acid and vitamin B12 deficiency in two Bari Indian communities from western Venezuela. *Invest Clin*; 1997;38:191-201.
 28. Regnault B. La población indígena y afrodescendiente de Venezuela. Y el aporte del censo indígena en el estudio de la asistencia escolar Pueblos indígenas y afrodescendientes de América Latina y el Caribe: relevancia y pertinencia de la información sociodemográfica para políticas y programas. CEPAL. IIES-UCAB. Venezuela 2005.
 29. Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas /Organización Mundial de la Salud, CIOMS/OMS. 2002. Pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos. [Accedido 2007 Junio 20]. Disponible en: http://www.ub.es/rceue/archivos/Pautas_Eticas_Internac.pdf.
 30. National Institute of Health (NIH). The practical guide identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. Norteamerican Association for the Study of Obesity. NIH Publication 2000 No. 00-4084. p. 94
 31. OMS – Organização Mundial de Saúde. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva, 1998.
 32. Okamoto, K.; Fuwa, K. Low contamination digestion bomb method using Teflon double vessel for biological materials. *Anal. Chem.* 1984;56:1750-1760.
 33. Casey CA, Smith A, Zhang P. Microminerals in human and animal milks en: Jensen RG, editor. Handbook of milk composition. San Diego, CA: Academic Press, 1995: 622-74.
 34. Rutkowski M, Grzegorzcyk K, Greger J. Adaptation of the phosphotungstate method for the determination of vitamin C contents in animal and human tissues. *Z. Naturforsch* 2002;57:1062-1065.
 35. Lawrence RA. La lactancia materna: Una guía para la profesión médica. (4ª edición). Madrid (España): Mosby/Doyma 1996.
 36. Michaelsen KH, Larsen PS, Thonsen BL, Samuelson G. The Copenhagen Cohort Study on Infant Nutrition and Growth: breast-milk intake, human milk macronutrient content, and influencing factors. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994;59:600-611.
 37. Instituto Nacional de Nutrición y Fundación Cavendes. Valores de Referencia de Energía y Nutrientes para la Población Venezolana. Serie de cuadernos azules. Caracas, Venezuela, 2000.
 38. Aular A. Manual de encuestas de consume de alimentos. Editado por Fundación Cavendes, Venezuela, 1989.
 39. Butte N, Calloway D. Evaluation of Lactational performance of Navajo Woman. *Am. J. Clin. Nutr.* 1981;34:2210-2215.
 40. Ronayne P, Weisstaub A, Lopez N, Ceriani J. Niveles de zinc en leche humana de término y pretérmino. *Arch Latinoam Nutr.* 2001;51:33-36.
 41. Romeu-Nadal M, Castellote AI, Gayà A, López-Sabater MC. Effect of pasteurization on ascorbic acid, dehydroascorbic acid, tocopherols and fatty acids in pooled mature human milk, *Food Chemistry* 2008;107(1):434-8.
 42. Castellote AI, Romeu-Nadal M, López-Sabater MC. Effect of cold storage on vitamins C and E and fatty acids in human milk, *Food Chemistry* 2008;106(1); 65-70.
 43. Salmenperä L. Vitamin C nutrition during prolonged lactation: optimal in infants while marginal in some mothers. *Am.J. Clin. Nutr.* 1984;40:1050-1056.
 44. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic. Biol. Med.* 2001;31:745-753.
 45. Qian SY, Buettner GR. Iron and dioxygen chemistry is an important route to initiation of biological free radical oxidations: an electron paramagnetic resonance spin trapping study. *Free Radic. Biol. Med.* 1999;26:1447-1456;