



FUNDACIÓN H. A.  
**BARCELÓ**  
FACULTAD DE MEDICINA



# TRABAJO FINAL DE INVESTIGACIÓN- EJECUCIÓN

---

CARRERA: **LICENCIATURA EN NUTRICIÓN**  
MODALIDAD: **Gestionado a distancia**

DIRECTOR /A DE LA CARRERA:

Dra. Norma Isabel Guezikaraian

NOMBRE Y APELLIDO DEL AUTOR / LOS AUTORES:

Natalia Cereseto, María Eugenia Gonzalez, Juan Francisco Malegarie, Gabriela Mabel Maya

TÍTULO DEL TRABAJO:

Revisión bibliográfica: Beneficios de la leche humana en el desarrollo del sistema inmune del lactante.  
Una perspectiva desde la microbiota.

SEDE:

Buenos Aires

ASESOR DE CONTENIDOS:

Lic. Adriana R. Gullerian

AÑO DE REALIZACIÓN:

2024

**Código de tesina**

**2024-01**

## Índice

Resumen .....	5
Resumo .....	6
Abstract .....	7
Introducción .....	8
Marco teórico.....	9
Leche Humana.....	10
Microbiota .....	10
Justificación .....	12
Pregunta general .....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos.....	13
Metodología de la investigación.....	13
Resultados de la revisión bibliográfica .....	14
Objetivo 1: .....	14
Descripción del origen de la microbiota de la leche materna.....	14
Inoculación retrógrada.....	14
Ruta enteromamaria.....	15
Microbiota mamaria residente .....	18
Composición: Microbiota central .....	19
El núcleo .....	20
Compuestos bioactivos .....	22
Diferencia de composición entre calostro, leche de transición y leche madura .....	23
Factores que influyen en la composición de la leche humana.....	27
Edad gestacional.....	27
Tipo de parto.....	27
Sexo biológico del producto de la gestación.....	28
Dieta materna.....	28
Índice de Masa Corporal (IMC) .....	29
Virus de inmunodeficiencia humana (VIH).....	29
Hipertensión arterial .....	30
Celiaquía y alergias.....	30
Infecciones bacterianas y virales.....	30
Uso de antibióticos .....	31
Ubicación geográfica.....	31
Objetivo 2: .....	39
Microbiota central.....	39
Compuestos bioactivos .....	44
Objetivo 3: .....	55

Microbiota intestinal en los primeros 1000 días .....	55
Recomendaciones nutricionales: lactancia materna, leche de vaca y fórmulas infantiles .....	55
Programación nutricional.....	57
Factores que influyen el establecimiento de la microbiota gastrointestinal en recién nacidos .	58
Bióticos en fórmulas infantiles .....	59
Prebióticos en fórmulas lácteas y leche de vaca .....	60
Oligosacáridos .....	61
Ácidos grasos.....	62
Proteínas bioactivas .....	63
Alergia a la leche de vaca .....	64
Intolerancia a la lactosa.....	66
Objetivo 4: .....	71
Probióticos .....	72
Prebióticos .....	73
HMO .....	75
Simbióticos.....	76
Glóbulo graso.....	77
Adición de $\alpha$ -lactoalbúmina .....	78
MicroRNAs.....	78
Implicaciones para las alergias e intolerancias alimentarias.....	81
Elegir la fórmula correcta en función de sus componentes.....	82
Discusión y conclusión.....	88
Referencias .....	92

## Resumen

### **Introducción**

La leche humana está diseñada para nutrir y proteger al lactante de ciertas enfermedades infecciosas y crónicas. Si bien es considerada el estándar de oro nutricional a nivel mundial, mientras que más del 80 % de los recién nacidos reciben lactancia materna en casi todos los países, solo el 35,7 % recibe lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses, valor en aumento desde 1993, cuando era del 24,9 %.

Las comunidades microbianas que incluyen el tracto intestinal reciben el nombre de microbiota. Esta se adquiere primero en el canal de parto y luego a través de la lactancia materna, y ejerce un impacto sustancial sobre la fisiología a corto y largo plazo, es por esto que la administración de probióticos al recién nacido provenientes de la glándula mamaria, logra una adecuada colonización intestinal y una óptima función del eje cerebro-intestino-microbiota.

### **Objetivo**

Explicar la influencia de la microbiota de la leche humana en el desarrollo del sistema inmune del lactante, mediante una revisión bibliográfica.

### **Metodología**

Se seleccionaron 89 artículos científicos de los años 2014 a 2024 de las bases de datos Pubmed, Cochrane, Scielo, Lilacs, Researchgate y Google Académico. Se utilizaron las palabras clave en español y en inglés: lactancia materna, sistema inmune, microbiota intestinal, microbiota de la glándula mamaria, microbioma de la leche humana.

### **Discusión y conclusión**

La microbiota de la leche humana está compuesta por bacterias, arqueas, virus, protozoos y hongos anaeróbicos. Su origen y presencia se explica a través de la vía de inoculación retrógrada, la vía enteromamaria y, aún en debate, por la noción de microbiota mamaria residente. Es preciso establecer un método de investigación sistemático y estandarizado para investigar la microbiota de la leche humana ya que los estudios difieren en cuanto a la cantidad y variedad de microorganismos presentes.

El desarrollo de una microbiota intestinal saludable, y la maduración del sistema inmunológico del lactante durante los primeros mil días de vida, impacta significativamente en la prevención de enfermedades crónicas, y la lactancia materna es crucial en este proceso.

Las fórmulas infantiles incluyen componentes que buscan igualar la leche humana. La adición de prebióticos y probióticos influye positivamente a corto plazo, sin embargo, aún se requiere más investigación para determinar su impacto en la salud del lactante a largo plazo. La adición de oligosacáridos de la leche humana, membrana del glóbulo graso lácteo,  $\alpha$ -lactoalbúmina y microRNAs en los últimos años son de gran importancia en la inmunidad del lactante, no obstante, aún se requiere investigación adicional al respecto.

La microbiota intestinal de lactantes amamantados se caracteriza por abundancia de *bifidobacterias*, mientras que la de los alimentados con fórmula presenta menor presencia de estos y mayor diversidad de microorganismos.

Cuando la lactancia materna no es posible, se recomienda acudir a bancos de leche materna. En su defecto, las fórmulas infantiles, prescritas por profesional idóneo, resultan la alternativa incluso para lactantes con alergias o condiciones médicas o dietéticas excepcionales.

### **Palabras clave**

Lactancia materna, sistema inmune, microbiota intestinal, microbiota de la glándula mamaria, microbioma de la leche humana.

## Resumo

### **Introdução**

O leite humano foi concebido para nutrir e proteger o bebê de certas doenças infecciosas e crônicas. Embora seja considerado o padrão ouro nutricional em todo o mundo, embora mais de 80 % dos recém-nascidos sejam amamentados em quase todos os países, apenas 35,7 % recebem aleitamento materno exclusivo até os 6 meses, valor que vem aumentando desde 1993, quando era de 24,9 %.

As comunidades microbianas que incluem o trato intestinal são chamadas de microbiota. Isto é adquirido primeiro no canal do parto e depois através da amamentação, e tem um impacto substancial na fisiologia a curto e longo prazo, razão pela qual a administração de probióticos ao recém-nascido a partir da glândula mamária consegue uma colonização intestinal adequada e uma função ideal do eixo cérebro-intestino-microbiota.

### **Mirar**

Explicar a influência da microbiota do leite humano no desenvolvimento do sistema imunológico do bebê, por meio de revisão bibliográfica.

### **Metodologia**

Foram selecionados 89 artigos científicos dos anos de 2014 a 2024 nas bases de dados Pubmed, Cochrane, Scielo, Lilacs, Researchgate e Google Scholar. Foram utilizadas as palavras-chave em espanhol e inglês: amamentação, sistema imunológico, microbiota intestinal, microbiota da glândula mamária, microbioma do leite humano.

### **Discussão e conclusão**

A microbiota do leite humano é composta por bactérias, arqueias, vírus, protozoários e fungos anaeróbios. Sua origem e presença são explicadas pela via de inoculação retrógrada, pela via enteromamária e, ainda em debate, pela noção de microbiota mamária residente. É necessário estabelecer um método de pesquisa sistemático e padronizado para investigar a microbiota do leite humano, uma vez que os estudos diferem no número e variedade de microrganismos presentes.

O desenvolvimento de uma microbiota intestinal saudável e a maturação do sistema imunológico do bebê durante os primeiros mil dias de vida impactam significativamente a prevenção de doenças crônicas, e a amamentação é crucial nesse processo.

As fórmulas infantis incluem componentes que buscam se adequar ao leite humano. A adição de prebióticos e probióticos tem uma influência positiva a curto prazo, no entanto, ainda são necessárias mais pesquisas para determinar o seu impacto na saúde da criança a longo prazo. A adição de oligossacarídeos ao leite humano, membrana do glóbulo de gordura do leite,  $\alpha$ -lactalbumina e microRNAs nos últimos anos são de grande importância na imunidade infantil, porém, pesquisas adicionais ainda são necessárias a esse respeito.

A microbiota intestinal de lactentes amamentados é caracterizada por abundância de *Bifidobacterium*, enquanto a de lactentes alimentados com fórmula apresenta menor presença destes e maior diversidade de microrganismos.

Quando não for possível amamentar, é recomendado ir aos bancos de leite materno. Caso contrário, as fórmulas infantis, prescritas por profissional qualificado, são a alternativa mesmo para bebês com alergias ou condições médicas ou dietéticas excepcionais.

### **Palavras-chave**

Aleitamento Materno, Sistema Imunitário, Microbioma Gastrointestinal, microbiota da glândula mamária, microbioma do leite humano.

## Abstract

### **Introduction**

Human milk is specifically designed to nourish and protect the infant against various infectious and chronic diseases. Worldwide, it is considered the gold standard in infant nutrition. Although more than 80 % of newborns are breastfed, only 35,7 % remain exclusively breastfed until six months, a figure that has increased from 24,9 % in 1993.

The microbiota, defined as the set of microorganisms that inhabit the intestinal tract, is initially acquired during the birth canal and is strengthened through breastfeeding. This microbial colonization significantly influences the infant's physiology in both the short and long term. The probiotics present in breast milk promote adequate intestinal colonization, optimizing the function of the brain-gut-microbiota axis.

### **Objective**

Through a bibliographic review, explain the influence of the microbiota of human milk on the development of the infant's immune system.

### **Methodology**

89 Scientific articles from the years 2014 to 2024 were selected from the Pubmed, Cochrane, Scielo, Lilacs, Researchgate, and Google Scholar databases. The keywords used in Spanish and English were: breastfeeding, immune system, gut microbiota, mammary gland microbiota, and human milk microbiome.

### **Discussion and conclusion**

The human milk microbiota is composed of a diversity of microorganisms, including bacteria, archaea, viruses, protozoa, and anaerobic fungi. Their origin and presence are mainly explained through the retrograde inoculation route and the enteromammary route, although the hypothesis of a resident mammary microbiota is still under discussion. It is essential to establish a standardized research method to study the human milk microbiota, as current studies show discrepancies regarding the quantity and variety of microorganisms identified.

The development of a healthy intestinal microbiota and the maturation of the infant's immune system during the first thousand days of life have a key impact on the prevention of chronic diseases, with breastfeeding being essential in this process.

Infant formulas include components designed to mimic human milk, such as prebiotics and probiotics, which have shown short-term benefits. However, more research is still needed to fully understand their long-term impact on infant health. The recent addition of human milk oligosaccharides, milk fat globule membrane,  $\alpha$ -lactalbumin, and microRNAs has shown promise in terms of immunity, although further studies are also required. In breastfed infants, the gut microbiota is characterized by an abundance of *bifidobacteria*, while formula-fed infants show a lower presence of these and a higher microbial diversity.

When breastfeeding is not possible, the use of breast milk banks is recommended. In their absence, infant formulas prescribed by a qualified professional are a suitable alternative, even for infants with allergies or exceptional medical or dietary conditions.

### **Keywords**

Breastfeeding, immune system, gut microbiota, mammary gland microbiota, human milk microbiome.

## Introducción

La leche humana, producida por la glándula mamaria, es un fluido fisiológico único que proporciona una nutrición completa al lactante. Este fluido alberga una microbiota compuesta por un conjunto de microorganismos los cuales, entre otras funciones, favorecen el desarrollo del sistema inmune del lactante<sup>8</sup>. Aunque la mayoría de los recién nacidos en el mundo son alimentados con lactancia materna, sólo poco más del 30% recibe lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses, como recomienda la Organización Mundial de la Salud<sup>4,5</sup>.

La microbiota, definida como un conjunto de microorganismos que incluyen bacterias, virus, hongos y levaduras, juega un papel esencial en la fisiología, inmunidad y nutrición del individuo, cooperando activamente en la salud presente y futura. La composición de estas comunidades microbianas, que ha sido analizada en esta revisión, varía según múltiples factores presentes desde el momento del nacimiento hasta la adultez, como son la alimentación, el tipo de parto, la edad gestacional, el uso de antibióticos, la ubicación geográfica, entre otros.

Se estima que los genes microbianos del microbioma humano superan en al menos 100 veces a los genes humanos, conformando un macroorganismo con una fisiología colectiva inseparable. Estudios recientes evidencian que el microbioma evoluciona a lo largo de la vida, influenciando tanto la salud como la enfermedad<sup>9</sup>. Desde finales del siglo XIX hasta principios del XXI, el interés por la microbiología de la leche humana ha evolucionado, pasando desde una perspectiva centrada en su potencial a una comprensión más profunda de la heterogeneidad microbiana<sup>12</sup>. Las investigaciones actuales destacan la presencia de especies como *Streptococcus* y *Staphylococcus* seguidas de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, y miembros de la familia *Enterobacteriaceae* en la leche materna.

La presente revisión bibliográfica tiene como objetivo analizar el impacto de la lactancia materna, particularmente de la microbiota presente en la leche humana, en la fisiología del lactante a corto y a largo plazo. También aborda los posibles orígenes de la microbiota mamaria, la colonización inicial en el recién nacido, y los factores asociados tanto al lactante como a la madre gestante que pueden influir tanto positiva como negativamente a los microorganismos que los habitan. Además, se exploran las diferencias entre la leche humana, las fórmulas infantiles y la leche de vaca, considerando su influencia en la microbiota del lactante, y sus implicancias en la función inmunológica intestinal.

A pesar de los avances en la investigación sobre la leche humana y sus beneficios, el conocimiento acerca de los efectos de la adición de prebióticos y probióticos en fórmulas

infantiles, diseñadas para asemejarse a la leche humana, está aún en progreso. La falta de información sobre sus efectos a largo plazo, motivó la realización de la presente revisión.

En este trabajo se incluyeron 89 estudios publicados entre 2014 y 2024 en sitios como Pubmed, Cochrane, Scielo, Lilacs, Researchgate y Google Académico. Los objetivos específicos son: describir el origen y composición de la microbiota de la leche materna; explicar los mecanismos mediante los cuales esta microbiota de la leche materna contribuye a la inmunidad intestinal del lactante; analizar las modificaciones en la microbiota intestinal del lactante al ser alimentado con fórmula láctea y/o con leche de vaca; y explicar los mecanismos por los cuales este tipo de alimentación influye en la función inmunológica del intestino.

En el marco teórico se presenta una síntesis de la evolución del conocimiento histórico sobre la leche humana, su composición y función, junto con una explicación de la microbiota presente en la glándula mamaria, el intestino materno y del lactante, destacando su papel fundamental en la inmunidad.

### Marco teórico

En el devenir de la historia, la alimentación del recién nacido y del lactante ha sufrido diversos avatares. Así, sobre todo a partir de la revolución industrial, y con la incorporación de la mujer a extensísimas jornadas laborales, la prevalencia de lactancia materna (LM) decayó considerablemente en los siglos XVIII y XIX, siendo sustituida, sobre todo al principio, por la leche proveniente de otras especies animales, como la vaca, oveja, cabra, etc.

A esto se añadió, durante el siglo XX, el énfasis en la apariencia de la madre y la aparición de las leches de fórmula en detrimento de la lactancia, por lo que los porcentajes de niños amamantados y la duración de la lactancia fueron decayendo progresivamente. A partir de los años 70 del pasado siglo, a raíz de la publicación de diferentes trabajos que exponen los beneficios de la leche humana (LH), esta tendencia comenzó a revertirse, principalmente en los últimos años<sup>1</sup>.

Al respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y UNICEF, recomiendan el inicio inmediato de la LM en la primera hora de vida, lactancia materna exclusiva (LME) durante los primeros seis meses de vida, y la introducción de alimentos complementarios seguros y nutricionalmente adecuados a partir de los seis meses, continuando la LM hasta los dos años o más<sup>2</sup>. Particularmente en Argentina, y a partir del Informe de la Encuesta Nacional de Lactancia Materna (ENaLac) realizada en 2017 en el sector de salud pública, si bien se observa un aumento estadísticamente significativo en la prevalencia de LME respecto de la última medición en 2015, se destaca todavía una elevada proporción de niños sin LME

durante los primeros 6 meses de vida, por lo que los indicadores de LM aún no logran niveles en consonancia con las recomendaciones actuales<sup>3</sup>.

A nivel mundial, más del 80 % de los recién nacidos reciben LM en casi todos los países; sin embargo, solo el 35,7 % recibe LME hasta los 6 meses, valor en aumento desde 1993, cuando era del 24,9 %.

En Argentina se valora positivamente la LM, dato que coincide con la prevalencia de LM en edades tempranas y con el inicio de la LM reportado en otras estadísticas nacionales<sup>4,5</sup>; sin embargo, a pesar de esa alta adherencia inicial, la práctica decae rápidamente a medida que los lactantes crecen<sup>6</sup>.

### Leche Humana

Los beneficios de la LM son incuestionables. La LH está diseñada para nutrir y proteger a los lactantes de ciertas enfermedades infecciosas y crónicas. Su composición puede variar en una misma toma, en un día determinado, de acuerdo con la edad del lactante o la edad gestacional al momento del parto, si se produce una infección en la mama, a lo largo del ciclo menstrual, o por el estado nutricional de la madre.

La función protectora contra infecciones que posee la LH se descubrió en la década de 1990-1999. Los componentes de la leche que confieren beneficios inmunológicos son: las células (linfocitos T y B), inmunoglobulinas secretoras (slgA, slgG, slgM, slgE, slgD), antígenos de histocompatibilidad, productos de las células T, muchos factores inespecíficos (p. ej., complemento, factor bifidus), proteínas transportadoras (lactoferrina, transferrina, proteína fijadora de vitamina B12 y proteína fijadora de corticoides) y enzimas (lisozima, lipoproteína lipasa, enzimas leucocíticas)<sup>7</sup>. Por tanto, la LH es un fluido fisiológico complejo, compuesto de vitaminas, minerales, proteínas, células, hormonas, factores inmunológicos e inmunomoduladores, biomoléculas no nutritivas (glicoconjugados, oligosacáridos) y una amplia gama de microbios (bacterias, arqueas, virus, protozoos y hongos anaeróbicos) conocida como microbiota de la leche humana (MLH)<sup>8</sup>.

### Microbiota

Desde el momento del nacimiento, el lactante humano está expuesto a una miríada de microorganismos que se encuentran en la madre y en el medio ambiente circundante. Los microorganismos rápidamente forman colecciones en todas las áreas expuestas del cuerpo, que incluyen la piel y el tracto intestinal. Las comunidades microbianas reciben el nombre de microbiota, y ejercen un impacto sustancial sobre la fisiología a corto y largo plazo, que incluye el desarrollo y la función inmunológica y metabólica. En conjunto, la totalidad de los

microorganismos, incluidos los genes microbianos y las interacciones ambientales, constituyen el microbioma, y se estima que los genes microbianos del microbioma humano superan el número de genes humanos en al menos 100 veces, constituyendo en conjunto un macroorganismo con una fisiología colectiva inseparable. Los datos actuales indican que el microbioma evoluciona durante la vida, lo que influye en la salud y la enfermedad<sup>9</sup>.

El estudio del microbioma humano permite el entendimiento de la microbiota en diferentes órganos, incluida la glándula mamaria. La conformación de esta microbiota tiene procesos específicos que le confieren características únicas, por lo cual la administración de probióticos al recién nacido debería provenir de la glándula mamaria, para lograr una adecuada colonización intestinal y tener una óptima función del eje cerebro-intestino-microbiota<sup>10</sup>.

El tracto intestinal del lactante comienza a ser colonizado durante el nacimiento, creando finalmente un microambiente rico y diverso. La microbiota se adquiere primero en el canal de parto y luego a través de la LM. Diversos estudios han demostrado sorprendentes similitudes entre los perfiles microbianos fecales de los lactantes y los perfiles bacterianos de la leche y la vagina materna, lo que evidencia la transmisión directa entre ellos y concuerda con lo anteriormente planteado<sup>11</sup>.

Tradicionalmente se pensaba que la LH era estéril. Sin embargo, la presencia de bacterias en la LH nunca se excluyó por completo, aunque su origen aún no está bien establecido<sup>12,13</sup>. Los primeros estudios realizados entre finales del siglo XIX y principios del XX se centraron en el carácter potencialmente nocivo del contenido bacteriológico de la LH, sin considerarla, tal y como ahora lo es, un recurso preciado. Aun así, a finales de los años 60, la presencia de bacterias en LH se consideraba una consecuencia de los bajos niveles de higiene personal y ambiental.

Posteriormente, en 2003, resurgió el interés por la microbiología de la LH con una nueva perspectiva. Basado en la detección de bacterias del ácido láctico supuestamente endógenas de LH de ocho madres sanas, se sugirió que la LM podría considerarse un alimento simbiótico, que alberga bacterias seguras con un papel potencial en la prevención de enfermedades infecciosas neonatales<sup>12</sup>.

En resumen, el propio tejido mamario contiene una población diversa de bacterias, que desempeñan un papel inmediato y a largo plazo en la reducción de la incidencia y gravedad de las infecciones bacterianas en los lactantes, mediante múltiples mecanismos; las bacterias comensales pueden excluir competitivamente o expresar propiedades antimicrobianas contra las bacterias patógenas<sup>13</sup>.

Por tal motivo, hoy en día, la LM se considera el “alimento probiótico prototípico de la madre naturaleza”. La creciente investigación sobre este tema ha llevado a una comprensión más profunda del asunto, descubriendo que la LH es un universo vivo poblado por bacterias, virus, hongos y levaduras que cooperan para la salud presente y futura del infante. Esta compleja comunidad microbiana asociada al huésped constituye el microbioma de la leche humana<sup>12</sup>.

El impacto de muchas covariables en la composición y el establecimiento del microbioma infantil se ha explorado a fondo, señalando que la edad gestacional, el modo de parto y el tipo de nutrición (LM, leche de donante o fórmula) podrían estar entre las variables con mayor impacto. Entre estos factores, se cree que la comunidad bacteriana de la LM es un actor relevante. Además, muchos estudios epidemiológicos han documentado diferencias en la composición de la microbiota intestinal en lactantes alimentados con leche humana y con leche artificial<sup>14</sup>.

Sumado a ello, se ha demostrado que las alteraciones tempranas de la vida en la progresión de los eventos que conducen al ensamblaje de un microbioma intestinal saludable, pueden predisponer a varias enfermedades no transmisibles en la infancia y la niñez, como la enterocolitis necrotizante, el asma y la enfermedad atópica, obesidad y trastornos del neurodesarrollo<sup>15</sup>.

En conclusión, la LH no sólo proporciona protección pasiva, sino que también modula directamente el desarrollo inmunológico del lactante a través de factores microbianos e inmunológicos transmitidos; por lo que, teniendo en cuenta que los primeros 6 meses de vida constituyen una ventana crítica para la impronta microbiana, estos eventos tempranos son cruciales para el desarrollo de su respuesta inmune<sup>13</sup>.

### Justificación

Los múltiples beneficios que proporciona la leche humana para el crecimiento y desarrollo del lactante, la significativa cantidad y amplia gama de microorganismos que contiene y su impacto en el desarrollo del sistema inmune del lactante; sumado a la importancia de los primeros meses de vida como ventana crítica para la impronta microbiana; suscita el interés en comprender de qué manera y a través de qué mecanismos se produce la influencia entre la ingesta de leche humana y el desarrollo progresivo de la inmunidad del lactante.

Se realizó con este propósito una revisión bibliográfica que permitió reunir la información actual sobre el tema, establecer discusiones y relaciones entre las diferentes posiciones teóricas, ofreciendo un conocimiento útil no sólo para profesionales de la salud, sino también

para quienes acompañan y toman decisiones respecto de la lactancia, el crecimiento y el desarrollo del lactante.

### Pregunta general

¿De qué manera influye la microbiota de la leche humana en el desarrollo del sistema inmune del lactante?

### Objetivo general

Explicar la influencia de la microbiota de la leche humana en el desarrollo del sistema inmune del lactante, mediante una revisión bibliográfica.

### Objetivos específicos

- Describir el origen y composición de la microbiota de la leche materna.
- Explicar los mecanismos por los cuales la microbiota de la leche materna actúa en la inmunidad del intestino del lactante.
- Definir la modificación de la microbiota intestinal del lactante al ser alimentado con fórmula láctea y/o con leche de vaca.
- Explicar los mecanismos por los cuales la alimentación con fórmula láctea actúa en la inmunidad del intestino del lactante.

### Metodología de la investigación

- **Tipo de diseño de investigación:** Revisión bibliográfica
- **Población:** todas las investigaciones relacionadas con microbiota y sistema inmune
- **Muestra:** 89
- **Año de publicación de las investigaciones a ser incluidas:** entre 2014 y 2024
- **Palabras clave en español:** lactancia materna, sistema inmune, microbiota intestinal, microbiota de la glándula mamaria, microbioma de la leche humana
- **Palabras clave en inglés:** breastfeeding, immune system, gut microbiota, mammary gland microbiota, human milk microbiome.
- **Sitios de búsqueda:** Pubmed, Cochrane, Scielo, Lilacs, Researchgate, Google Académico
- **Organismo sobre el cual se realiza la búsqueda:** seres humanos

### **Criterios de inclusión:**

- Estudios, investigaciones científicas y/o revisiones de tipo descriptivas y/u observacionales que analicen la microbiota de la glándula mamaria y de la leche materna.

- Estudios, investigaciones científicas y/o revisiones de tipo descriptivas y/u observacionales sobre la influencia de la leche humana en el desarrollo del sistema inmunitario del lactante.
- Estudios, investigaciones científicas y/o revisiones de tipo descriptivas y/u observacionales que sean publicados en inglés y/o español.
- Estudios, investigaciones científicas y/o revisiones de tipo descriptivas y/u observacionales comprendidas entre los años 2014 y 2024.

#### **Criterios de exclusión:**

- Estudios, investigaciones científicas y/o revisiones que relacionen el desarrollo del sistema inmune del lactante con componentes de la leche humana distintos de la microbiota de la glándula mamaria.
- Estudios, investigaciones científicas y/o revisiones que establezcan relaciones entre el desarrollo del sistema inmunitario del lactante y factores ambientales.
- Estudios, investigaciones científicas y/o revisiones sobre la glándula mamaria que no sean sobre humanos.

### Resultados de la revisión bibliográfica

Objetivo 1: Describir el origen y composición de la microbiota de la leche materna.

#### Descripción del origen de la microbiota de la leche materna

En la exploración de la MLH, se han encontrado tres hipótesis para explicar la presencia y origen de las bacterias en este fluido vital: la vía de inoculación retrógrada, la vía enteromamaria y la noción de microbiota mamaria residente<sup>16,18</sup>.

#### Inoculación retrógrada

Esta hipótesis, tradicionalmente aceptada, sugiere que la microbiota encontrada en la LH es el resultado de la contaminación de microorganismos (m.o.) circundantes en la piel que rodea a la glándula mamaria con la cavidad oral del neonato. Esta teoría también postula un flujo retrógrado entre los conductos mamarios, facilitando la migración de bacterias desde la boca del lactante hacia la glándula mamaria y, en última instancia, a la LH. Este proceso, conocido como "trasplante natural de bacterias", incluye la inoculación durante el canal de parto y se ha debatido en base a evidencia que cuestiona su plausibilidad. Entre ellas, la presencia de *bifidobacterias* anaerobios estrictos; o bacterias que pueden aislarse del calostro antes de que el niño nazca; y bacterias vivas administradas oralmente a la madre lactante, que son encontradas en la LH. Por otra parte, aunque algunos *lactobacilos* vaginales se transfieren al niño cuando nace, no colonizan con éxito el intestino neonatal. La secuencia de

*Lactobacilos* aislados de las heces de los niños, es similar a la encontrada en la LH de su respectiva madre. Los *Lactobacilos* de LH no son iguales a los *Lactobacilos* vaginales.

Convencionalmente, se creía que la MLH era el resultado de la contaminación de la piel de la madre durante la lactancia, y muchos estudios señalan las similitudes entre el microbioma de la piel adulta y el microbioma de la leche, particularmente entre el género *Staphylococcus* y *Corynebacterium*. Además, las bacterias de la LH podrían verse influenciadas por la cavidad oral del lactante, los estudios han informado, a través de imágenes de ultrasonido, de un flujo de leche retrógrado debido a la lactancia. Este flujo de leche hacia los conductos mamarios proporciona un posible mecanismo que detalla la transferencia de bacterias de la boca del lactante a la glándula mamaria de la madre. Además, se sugirió que la expresión del extractor de leche podría influir en el microbioma, proponiendo que el extractor podría desempeñar un papel potencial en la retrogradación de las bacterias exógenas en los conductos de la leche, hipótesis respaldada por estudios de cohortes que determinaron la presencia de más bacterias patógenas en la leche obtenida de este modo en comparación con la lactancia directa del pecho. Además, se ha observado que hay cambios en la composición inmunológica de la LH en respuesta a la infección activa de los lactantes. Aunque se necesita más investigación, las actuales sugieren que durante el reflujo retrógrado, la saliva de la cavidad oral del lactante fluye de nuevo a la glándula mamaria. Esta exposición de la infección infantil a la madre puede estimular una respuesta inmunomoduladora, lo que conduce a un aumento de la producción de leucocitos y anticuerpos en la leche materna. Estos resultados apoyan aún más el conocimiento de que la LH cambia en la composición en respuesta a la infección infantil y confiere protección inmunológica al lactante.

### Ruta enteromamaria

El descubrimiento de especies anaerobias asociadas con entornos intestinales que no pueden existir en entornos aeróbicos ha despertado el interés por la complejidad de los orígenes de las bacterias en la LH. Estos hallazgos sugieren que las bacterias vivas del intestino materno viajan mediante una ruta endógena a la glándula mamaria a través de la presencia de una vía entero-mamaria. Esta translocación de bacterias del intestino materno a la glándula mamaria implica interacciones complejas entre las células epiteliales, las células inmunitarias y las bacterias. La evidencia que apoya la vía entero-mamaria incluye la presencia de comunidades bacterianas en el calostro recogido antes de la primera lactancia infantil. El mecanismo de la translocación fisiológica involucra células inmunitarias, células dendríticas y células CD18 que liberan bacterias no patógenas desde la luz intestinal hasta la glándula mamaria lacta. Las células dendríticas son capaces de penetrar en el

epitelio intestinal abriendo las estrechas uniones entre las células epiteliales intestinales y aperran bacterias de la luz intestinal. Las bacterias son transportadas posteriormente por los macrófagos a los ganglios linfáticos mesentéricos y, en última instancia, a la glándula mamaria. Durante el embarazo tardío y la lactancia, se cree que la translocación ocurre con más frecuencia debido a la alteración de la regulación de la unión apretada en el tracto intestinal que resulta en el eflujo de células inmunitarias a la glándula mamaria. Además, se conoce bien la presencia de una circulación enteromamaria de células productoras de IgA, y los estudios han informado que dentro de los ganglios linfáticos mesentéricos, se sabe que las células dendríticas intestinales retienen un bajo número de bacterias comensales vivas durante varios días. Sin lugar a dudas, los anaerobios como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* se transfieren de madre a lactante. Los estudios han demostrado *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* spp. aislados de la leche materna, que no pudieron aislarse de los hisopos correspondientes de la piel de la mama, proporcionando así más evidencia de la existencia de una vía enteromamaria<sup>17</sup>.

La colonización de la glándula mamaria por parte de las bacterias del intestino materno, que pasarían por medio de la lactancia al neonato, es denominada como 'migración activa'. A pesar de la aceptación de esta ruta enteromamaria, el proceso exacto por el cual estas bacterias eluden las defensas del huésped sano y evitan la fagocitosis aún no se comprende completamente. Se sugiere que las bacterias intestinales se unen a células dendríticas o macrófagos en el intestino materno, acceden al epitelio intestinal sin cambiar la estructura de su barrera y se transportan desde las placas de Peyer a través de los ganglios linfáticos mesentéricos hacia otros tejidos linfoides asociados a mucosas, incluida la glándula mamaria. La influencia hormonal durante el embarazo y la lactancia, con el aumento de la circulación hacia la glándula mamaria, se considera un factor contribuyente a este proceso, aunque los mecanismos precisos aún están por determinarse.

Sumado a eso, se postula que la progesterona y la prolactina pueden desempeñar roles clave en la evasión de las defensas inmunitarias y la promoción de la colonización bacteriana en la glándula mamaria. Sin embargo, se requiere una investigación más profunda para comprender completamente el papel de estas hormonas durante el embarazo y la lactancia en relación con la MLH<sup>10</sup>.

La recuperación, en MLH, de ADN de familias bacterianas anaeróbicas, como *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* y *Bacteroidaceae*, que se encuentran comúnmente en el intestino humano adulto, sumado a la presencia de algunas de estas bacterias en el precalostro, confirma la hipótesis de que están presentes en la LH antes del parto y la LM. Se sugiere que las bacterias intestinales maternas podrían translocarse a la glándula

mamaria a través de la mucosa intestinal por internacionalización de células dendríticas y CD18+, a través de circulación linfática y sanguínea, durante el embarazo tardío y la LM<sup>18</sup>.

En la mayoría de los estudios, la MLH se ha explorado una vez que se ha expresado la leche, o en otras palabras, fuera de la glándula mamaria. Queda por determinar si la microbiota puede asociarse con la leche dentro de la glándula mamaria. Por lo tanto, aunque la presencia de m.o. en la leche está respaldada por un gran conjunto de investigaciones en todo el mundo en diferentes huéspedes, se deben tener en cuenta los muestreos y los métodos que se han utilizado y, por lo tanto, limitarse en las conclusiones que se pueden extraer.

Se requieren investigaciones adicionales para abordar la posibilidad de transferencia de bacterias viables del tracto intestinal a la leche a través de una vía enteromamaria, tanto más cuanto que estas bacterias intestinales tendrían que superar varios cortafuegos inmunológicos y engañar inesperadamente al sistema inmunológico después de la translocación para llegar a la glándula mamaria. Sin embargo, varios estudios sugieren la transferencia a la leche y a los lactantes, a través de esta ruta enteromamaria, de componentes bacterianos que pueden contribuir a la programación del sistema inmunológico neonatal, permitiendo la discriminación entre patógenos y organismos comensales.

Es probable que las bacterias encontradas en la leche extraída provengan de dos fuentes principales: la contaminación a través de la exposición bacteriana de la mama durante y entre las sesiones de lactancia, así como de fuentes endógenas a través de una aún hipotética vía enteromamaria. La presencia de bacterias de la cavidad oral en la microbiota de la leche ha sido ampliamente documentada, sugiriendo la posibilidad de un flujo retrógrado hacia los conductos mamarios durante la lactancia. A su vez, la leche también puede proporcionar bacterias a la cavidad oral del lactante, dado que contiene especies de géneros como *Propionibacterium* sp., *Staphylococcus* sp. o *Corynebacterium* sp., habitantes habituales del ecosistema de la piel adulta.

Sin embargo, más allá de estos filotipos comunes, se informan amplias diferencias entre las composiciones de la leche y las comunidades bacterianas de la piel. Por ejemplo, la LH contiene *bifidobacterias* y *lactobacilos* que no se encuentran en la microbiota de la piel de la mama. El aislamiento de una cepa común del anaerobio obligado *Bifidobacterium longum* de las heces maternas y neonatales, así como de la leche, apoya la hipótesis de una ruta enteromamaria. La presencia de bacterias viables en el tejido mamario de mujeres que nunca han amamantado sugiere además que la glándula mamaria en sí puede ser una fuente de bacterias para la leche<sup>19</sup>.

Mediante estudios que emplearon la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) para analizar el ADN polimórfico aislado de las bacterias del ácido láctico presentes en la microbiota de la leche humana (MLH), se pudo observar una marcada divergencia en los perfiles de ADN entre las bacterias del ácido láctico halladas en la MLH y aquellas provenientes de la piel del pecho o la areola mamaria. Por ejemplo, se identificaron en la MLH anaerobios obligados, como *Bacteroides* spp. y/o *Bifidobacterium* spp., los cuales difícilmente sobrevivirían en condiciones aeróbicas, como las de la piel de la mama, lo que respalda la posibilidad de una ruta enteromamaria. Esta translocación de las bacterias intestinales a las glándulas mamarias se ve facilitada por factores fisiológicos y cambios hormonales al final del embarazo, que aumentan la permeabilidad del revestimiento epitelial del intestino.

Por otro lado, se observó que *Streptococcus*, uno de los géneros más prevalentes en las muestras de MLH a nivel mundial, constituía solo un componente minoritario en el bacterioma cutáneo sebáceo. En contraste, *Propionibacterium*, destacado como uno de los géneros más abundantes en la piel sebácea, no se encontró entre los más representativos en las muestras de MLH.

Asimismo, se constató que *Streptococcus*, uno de los géneros predominantes en la MLH, también era predominante en el bacterioma de la saliva. Este hallazgo refuerza la hipótesis de que algunas bacterias presentes en la MLH podrían tener origen en la boca de los lactantes, además de la transferencia desde la piel. Durante la succión, las bacterias ingresan a los conductos mamarios en un proceso conocido como flujo retrógrado, brindando así una vía para el intercambio bacteriano hacia estos conductos<sup>8</sup>.

### Microbiota mamaria residente

Todavía existe un debate en curso sobre si la glándula mamaria alberga un microbioma residente, lo que se conoce como el modelo de interfaz de la mucosa, o si simplemente actúa como un transeúnte sometido a una constante afluencia de microbios de fuentes externas, es decir, el modelo de afluencia constante. Este último modelo se apoya en la falta actual de evidencia de adhesión bacteriana al epitelio mamario fuera de un entorno de mastitis, así como en la ausencia de reproducción bacteriana dentro del tejido mamario.

Por otro lado, el modelo de interfaz de la mucosa, encuentra respaldo en la presencia de un microbioma en las glándulas mamarias antes de la lactancia. Sin embargo, la diferencia entre el microbioma de la glándula mamaria no lactante y el MLH no permite descartar completamente el modelo de afluencia constante<sup>12</sup>.

## Composición: Microbiota central

La LH está compuesta no solo de nutrientes esenciales (vitaminas, minerales, hidratos de carbono, proteínas, grasas), células, hormonas, factores inmunológicos e inmunomoduladores (citocinas, inmunoglobulina A, microARN), también de biomoléculas no nutritivas (glicoconjugados, oligosacáridos) y una amplia gama de m.o. (bacterias, arqueas, virus, protozoos y hongos anaeróbicos) estos últimos, conforman la MLH<sup>8</sup>. Por lo tanto, la precisión y actualización de los datos sobre la composición de los nutrientes y los factores que los influyen son de vital importancia para la evaluación de las necesidades nutricionales y la gestión de la alimentación infantil<sup>20</sup>.

Excluyendo al agua, que comprende alrededor del 87 % al 88 %, los componentes fundamentales de la LH, son los macronutrientes: carbohidratos, proteínas y lípidos, los cuales proporcionan un apoyo esencial para el crecimiento y desarrollo del lactante, suministrando entre 65 y 70 kcal de energía por cada 100 ml.

Los oligosacáridos son el tercer componente sólido más abundante en la LH después de la lactosa y los lípidos. Se sintetizan en la glándula mamaria a partir de la lactosa; razón por la cual, se han denominado oligosacáridos de la leche humana (HMO)<sup>22</sup>.

La proteína de la leche materna se compone de una mezcla de suero y caseína y varios péptidos. La relación suero/caseína varía según el momento de la lactancia.

Las grasas desempeñan un papel crucial en el suministro de nutrientes del lactante (casi el 50 % del contenido energético total) y el desarrollo del sistema nervioso central.

En el pasado, se creía que la LH de una madre sana carecía de m.o.. Se sostenía la idea de que las bacterias presentes en la LH eran consideradas como agentes contaminantes o patógenos, y se las asociaba especialmente con la mastitis.

Los primeros estudios basados en cultivos informaron de bacterias gram positivas cultivables de rápido crecimiento, como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*. Sin embargo, en 2003, *Martin et al*, en un estudio que utilizó técnicas de cultivo, aisló bacterias del ácido láctico, lo que comprobó por primera vez que la LH era una fuente importante de bacterias del ácido láctico para el intestino infantil. Descubrieron que los perfiles de ADN de las bacterias del ácido láctico de la LH eran diferentes de los de la piel de la madre. Ese mismo año, también realizaron un estudio basado en cultivos e informaron que la LH de madres sanas contiene bacterias comensales. Llegaron a la conclusión de que un lactante que consume alrededor de 800 ml de leche materna al día,

ingere  $10^4$  -  $10^6$  bacterias comensales. Varios estudios posteriores ratificaron la presencia de microbiota propia en LH<sup>21</sup>.

La LH se reconoce actualmente como un ecosistema vivo que alberga no solo bacterias, (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Ralstonia*, *Propionibacterium*, *Sphingomonas* y miembros no cultivados de *Bradyrhizobiaceae*) sino también virus, (Fagos: *Myoviridae*, *Siphoviridae* y *Podoviridae* / Virus eucariotas: *Herpesviridae*, *Poxviridae*, *Mimiviridae* e *Iridoviridae*) hongos y levaduras (*Malassezia*, *Davidiella*, *Sistotrema* y *Penicillium*) y géneros menores (Protozoos: *Toxoplasma gondii* y *Giardia intestinalis* / Archaea: *Methanobre*), conocidos colectivamente como MLH. La siembra de MLH es un fenómeno complejo cuya dinámica aún es materia de investigación.

El desarrollo de técnicas de análisis independientes del cultivo, especialmente la aparición de técnicas de secuenciación de próxima generación de alto rendimiento, la metataxonómica (secuenciación del gen 16SrRNA) y la metagenómica (secuenciación total de ADN) ha ampliado los horizontes de la investigación sobre la MLH<sup>12</sup>.

La secuenciación de los genes bacterianos de ARNr 16S ha revelado que la leche contiene ADN de diversos grupos microbianos que antes no se detectaban con las técnicas convencionales basadas en cultivos.

En la actualidad, se acepta ampliamente que existen m.o. abundantes y diversos en la LH y que estos m.o. desempeñan un papel importante en la colonización del intestino infantil. La MLH comprende todos los reinos de m.o., incluidas bacterias, arqueas, microeucariotas y virus, siendo la comunidad bacteriana la más abundante y mejor caracterizada<sup>23</sup>.

A partir del año 2003, se inició la investigación sobre la presencia de m.o. vivos en la LH. Mediante técnicas basadas en el cultivo, se descubrió que en todas las muestras predominaban las bacterias del ácido láctico, particularmente *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus fermentum*. Las bacterias del ácido láctico, incluyendo especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, marcaron el comienzo de un emocionante mundo previamente desconocido.

### El núcleo

En el año 2011, *Hunt et al* sugirieron la existencia de un "bacterioma central" compuesto por nueve géneros bacterianos, que incluyen *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Ralstonia*, *Propionibacterium*, *Sphingomonas* y *Bradyrhizobium*. Las unidades taxonómicas operativas representan aproximadamente la mitad de la comunidad microbiana observada, aunque su cantidad relativa variaba

notablemente entre las mujeres. Desde entonces, varios estudios han respaldado la hipótesis de un bacterioma central. Este "núcleo" no se observó en muestras de calostro, lo que sugiere que la adquisición de un perfil microbiano estable es gradual<sup>8</sup>. Sin embargo, los resultados fueron variando con investigaciones más actuales<sup>24,25</sup>. Un estudio identificó la presencia de un bacterioma central compuesto de 12 géneros que parecieran predominar en la LH, ya que se detectaron con una cantidad relativa media de  $\geq 1$  % en al menos el 90 % de las muestras recolectadas a lo largo del tiempo. Este núcleo estaba compuesto por *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Elizabethkingia*, *Variovorax*, *Bifidobacterium*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Stenotrophomonas*, *Brevundimonas*, *Chryseobacterium* y *Enterobacter*. Las secuencias restantes se asignaron a 195 géneros, lo que demuestra aún más la diversidad de la MLH. Las cantidades relativas de estos géneros eran específicas de cada individuo y estaban sujetas a variaciones intraindividuales a lo largo del tiempo<sup>26</sup>.

En otro estudio de amplia magnitud<sup>25</sup>, el 100 % de las muestras contenían 12 géneros principales. Los cinco más abundantes pertenecían a *Burkholderiales*, *Staphylococcus*, *Ralstonia*, *Comamonadaceae* y *Acidovorax* sin clasificar. Los otros fueron *Massilia*, *Rheinheimera*, *Agrobacterium*, *Rhodospirillaceae* no clasificados, *Vogesella*, *Nocardioides* y *Burkholderiales* no clasificados.

Una revisión sistemática reciente realizada por Togo et al<sup>27</sup> confirmó una alta diversidad de MLH con 820 especies. Las especies más frecuentemente detectadas fueron bacterias anaeróbicas facultativas o estrictamente aeróbicas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Cutibacterium acnes*, *Enterococcus faecalis*, *Bifidobacterium breve*, *Escherichia coli*, *Streptococcus anguinus*, *Lactobacillus gasseri* y *Salmonella entérica*<sup>21</sup>.

Las revisiones sistemáticas de múltiples estudios confirman la presencia de una diversidad de m.o., entre los cuales, los miembros de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Propionibacterium* se identifican de manera consistente como componentes principales de la MLH, utilizando tanto métodos dependientes e independientes del cultivo<sup>28</sup>.

Si bien ambos métodos de cultivos son utilizados de manera individual, se destaca la importancia de la combinación de ambas metodologías para evaluar con mayor precisión la composición de la LM. Los métodos moleculares -la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) y la secuenciación de nueva generación (NGS)- permitieron la detección del doble de especies bacterianas en comparación con los métodos de cultivo. A pesar de las diferencias en los resultados, ambos métodos demostraron como principal característica

la identificación de una microbiota central compuesta por 7-9 taxones en función de la metodología y población de estudio seleccionada. Se han identificado *Staphylococcus* y *Streptococcus* como los géneros observados de manera más consistente y frecuente en la LH.

Existen diversas razones que pueden explicar las diferencias encontradas previamente. En primer lugar, factores individuales como la edad, el origen étnico, factores regionales y ambientales, enfermedades crónicas como la celiaquía y los trastornos alérgicos, la dieta, el índice de masa corporal, infecciones bacterianas y virales, la paridad, el método de parto, el sexo biológico, el uso de antibióticos durante el embarazo y la lactancia, el momento de lactancia, la infección por VIH, pueden impactar la diversidad microbiana presente en la LH. Los síntomas depresivos post parto se han asociado con aumento de cortisol, lo que podría influir negativamente en la composición de la microbiota<sup>16</sup>.

En segundo lugar, el muestreo y el procesamiento de la LH no están estandarizados para cada estudio. Existen diferentes métodos y técnicas de recolección de muestras, extracción aséptica, extracción manual o con bomba, con descarte de las primeras gotas o no, lapso de tiempo entre la recolección y el examen de LH<sup>29</sup>.

En tercer lugar, las técnicas experimentales utilizadas en los estudios no son las mismas y la diferencia entre laboratorios no está calibrada. En particular, es importante reducir los errores en los resultados debidos a contaminación o errores técnicos y realizar análisis imparciales<sup>19</sup>.

Establecer un método de investigación sistemático y estandarizado para investigar el microbioma de la LM será un desafío fundamental, pero es importante para avanzar en la comprensión del microbioma de la LM.

El proceso intrincado y en constante evolución a través del cual se introduce la MLH, sigue siendo un tema de complejidad, con facetas aún por comprender completamente.

### Compuestos bioactivos

La LH contiene gran cantidad de compuestos bioactivos entre los que se incluyen hormonas, factores de crecimiento, citocinas, péptidos antimicrobianos, antioxidantes, inmunoglobulinas, lactoferrina, lisozima, glóbulos blancos, ácidos grasos de cadena corta y micro ARN, los cuales son capaces de inhibir la inflamación, así como de mejorar la producción de anticuerpos específicos<sup>18,30</sup>, en conjunto influyen en el ensamblaje del microbioma intestinal y el crecimiento del lactante<sup>23</sup>.

En la categoría de péptidos antimicrobianos se incluyen los glicanos, entre los que existe un grupo de oligosacáridos con diferentes estructuras que se sintetizan a partir de la lactosa en la glándula mamaria, los HMO<sup>22</sup>. Son glicanos complejos de los cuales hasta el momento se han identificado más de 200, los cuales varían en estructura y composición en la leche a lo largo de la lactancia. Se estima que hay de 20 a 25 ng/l en el calostro y disminuyen gradualmente hasta unos 5 a 15 ng/l en la leche madura<sup>17,21, 30</sup>.

Están compuestos de monosacáridos y derivados de monosacáridos: glucosa (Glc), galactosa (Gal), *N*-acetilglucosamina (GlcNAc), fucosa (Fuc) y ácido siálico (Sia). Se clasifican en tres categorías: Los HMO neutros (fucosilados), que representan del 35 % al 50 % del contenido total de HMO; Los HMO neutros que contienen N (no fucosilados) y representan del 42 % al 55 % del contenido total de HMO y los HMO ácidos (sialilados) representando del 12 % al 14 % del contenido total de HMO.

La composición de los HMO está determinada genéticamente y refleja las características del grupo sanguíneo, que depende de la expresión de determinadas glicosiltransferasas. Según el sistema del grupo sanguíneo Secretor (Se) y Lewis (Le) se pueden asignar 4 grupos de leche, secretores *Le positivos* (*Le + Se +*), secretores *Le negativos* (*Le - Se +*), no secretores *Le positivos* (*Le + Se -*), y no secretores *Le negativos* (*Le - Se -*).

La leche de madres de bebés lactantes prematuros contiene mayor cantidad de HMO que la leche de bebés nacidos a término. Por otro lado, la leche prematura contiene niveles más bajos de HMO fucosilados que la leche a término, y no se encuentran diferencias significativas en los HMO neutros y ácidos entre la leche prematura y a término.

Los Micro ARN son pequeñas moléculas de ARN no codificantes que desempeñan un papel importante en la regulación de la expresión génica a nivel postranscripcional, participan en el desarrollo, diferenciación, proliferación y metabolismo de células y tejidos. Entre los diferentes fluidos corporales, la LH es una de las fuentes más abundantes de microARN, y el origen de los mismos parece ser la glándula mamaria y en menor medida, la circulación materna. Cumplen función inmunológica (durante el desarrollo del sistema inmune) y metabólica<sup>21</sup>.

### Diferencia de composición entre calostro, leche de transición y leche madura

Durante la transición del calostro a la leche madura se producen numerosas alteraciones en el contenido nutricional, inmunológico y microbiológico. Alrededor de la mitad del embarazo comienza la síntesis del calostro, la cual se extiende durante aproximadamente cinco días después del parto, seguida de una transición gradual a la leche de transición, que persiste durante aproximadamente dos semanas. En la cuarta semana después del parto, la LH está

completamente madura y mantiene una composición relativamente constante durante el resto del período de lactancia.

Inicialmente, abundan componentes inmunológicos como IgA secretora, citocinas, lactoferrina, lisozimas, leucocitos, péptidos antimicrobianos, así como factores de desarrollo como el factor de crecimiento epidérmico y factores bioactivos con una fuerte actividad inmunomoduladora. El calostro contiene bajas concentraciones de lactosa y grasa en comparación con la leche madura, lo que indica que sus funciones primarias son inmunológicas y tróficas más que nutricionales<sup>31</sup>.

Al término de la sexta semana de transición se comienza a sintetizar la LH madura. La transición del calostro a la leche madura influye también en la composición bacteriana, ya que se han detectado cambios en la cuantía de varios m.o., junto con una modificación significativa de las interacciones bacterianas (red de microbiota)<sup>32</sup>.

Para analizar los cambios en la MLH durante las etapas de calostro y leche madura, se han observado estudios con distintos enfoques, pero con el mismo propósito: identificar la composición bacteriana tanto en el calostro, como de leche de transición y madura.

El estudio inicial seleccionado analiza muestras de calostro obtenidas tres días posteriores al parto, correspondientes a 15 partos vaginales frente a 14 cesáreas, las muestras fueron sometidas a análisis mediante secuenciación de próxima generación (Ion Torrent Personal Genome Machine).

Comparando el microbioma del calostro de parto por cesárea y el de parto vaginal, este último presentó mayor riqueza en m.o. pertenecientes a los géneros *Streptococcus* y *Haemophilus*, con una cantidad significativamente menor de *Finegoldia spp.*, *Halomonas spp.*, *Prevotella spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Staphylococcus spp.*

En el siguiente [link](#) se puede visualizar la red de microbiota del calostro de cesárea. Los m.o. que muestran al menos tres conexiones con otros en la red se consideraron como los principales centros bacterianos.

En el siguiente [link](#) se puede visualizar la red de microbiota del calostro de parto natural. Los m.o. que muestran al menos tres conexiones con otros en la red se consideraron como los principales centros bacterianos<sup>32</sup>. Los nodos centrales de esta red fueron *Rhodanobacter* y *Achromobacter*, este último también representa el centro bacteriano con más interacciones con otros m.o. (16 conexiones).

En otro de los estudios participaron parejas de madres y recién nacidos reclutados en salas posnatales de hospitales de la República de Burundi (Hospital de Ngozi) y de Verona, Italia

(Policlínico GB Rossi), dos áreas geográficas totalmente diferentes. Se analizaron muestras de calostro, tomadas 3 días posteriores al parto y de leche madura al mes de vida. Se utilizó la secuenciación del gen 16S rRNA. En el siguiente [Link](#) pueden observarse los principales géneros bacterianos detectados en el calostro y la leche madura. El estilo de vida y los hábitos alimentarios pueden tener un alto impacto en la composición de la MLH, siendo tan diferentes entre Italia y Burundi; y la dieta, en primer lugar, podría explicar las principales diferencias en la composición y la red del microbioma.

El calostro y la leche madura son diferentes no sólo por el contenido de proteínas y grasas sino también por la composición de la microbiota. Se cree que algunos géneros bacterianos son esenciales en la primera fase de la lactancia, y por ello tienen un papel fundamental en el calostro, mientras que otros m.o. son fundamentales en la nutrición a largo plazo de los recién nacidos, teniendo en consecuencia un papel importante en la leche madura<sup>33</sup>.

Otro de los estudios, investigó la composición de la MLH utilizando muestras de madres lactantes que dieron a luz prematuramente y a término. Se observa que la composición y diversidad de la MLH varía según las etapas de la lactancia. El estudio empleó la secuenciación del gen 16S rRNA.

Para la recolección de las muestras se recoge una «muestra limpia» mediante una técnica aséptica del seno izquierdo; se recoge una «muestra natural» del seno derecho. Cada muestra limpia y natural se recolecta en tres momentos: 0 a 3 días posparto (calostro); 7 a 15 días posparto (leche de transición); 2 meses posparto (leche madura).

A lo largo de estas etapas de lactancia, los componentes nutricionales y no nutricionales de la LH presentan variaciones. El resultado revela variaciones notables en la diversidad y riqueza microbiana en las etapas de calostro, transición y leche madura. El calostro tiene la diversidad más baja, que aumenta progresivamente a medida que la leche madura. El modo de parto no ejerció ningún impacto en la composición del microbioma de la leche.

Se identifican varios filos consistentes a lo largo de las etapas de lactancia. *Firmicutes* se detecta como el filo más dominante, durante la lactancia temprana y media, y su prevalencia disminuyó en muestras de leche materna maduras. Las *actinobacterias* aumentaron a medida que avanzaba la lactancia; de manera similar, la cantidad relativa de *Bacteroidetes* y *Proteobacteria* fue mayor en muestras de leche madura.

En el siguiente [link](#) puede observarse un gráfico que compara la composición y diversidad de la microbiota en diferentes etapas de la lactancia en muestras de LH. En el apartado **A** el calostro tiene la diversidad más baja, que aumenta progresivamente a medida que la leche

madura; en el **B** se observan diferencias en la diversidad según la etapa de lactancia. Amarillo: calostro, rojo: transición, azul real: muestras maduras de LH. En el **C** puede visualizarse abundancia relativa de los cinco filos bacterianos más abundantes en los tres grupos.

A nivel de género, se identifican: *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, sin clasificar *Basilli*, sin clasificar *Gemellaceae*, sin clasificar *OD1* y *Veillonella*. *Streptococcus* fue el género más abundante. Además, durante la etapa de transición de la leche, la cantidad relativa de *Staphylococcus* fue la más alta, ya en la leche madura, *Veillonella*, *Lactobacillus*, los comensales de la piel *Corynebacterium* y *Propionibacterium* exhibieron una tendencia ascendente significativa en sus abundancias relativas en comparación con el calostro y la transición.

En el apartado **B** del siguiente [link](#) puede observarse el gráfico de barras individuales para los 10 géneros principales en las tres etapas de lactancia<sup>34</sup>.

En otro de los estudios seleccionados<sup>35</sup>, se investigó la evolución de la composición del microbioma de la leche durante la LM hasta los 6 meses en 80 mujeres lactantes, analizando doscientas treinta y una muestras de LH, utilizando secuenciación composicional de ARNr 16S. Para el muestreo de leche, se pidió a las madres que limpiaran el pecho con agua y extrajeran de 15 a 20 ml de leche.

En el siguiente [link](#) pueden observarse los gráficos de abundancia relativa de bacterias **(A)** Phyla y **(B)** Géneros durante la lactancia.

A nivel de filos (Fig. A): se identifica una serie de filos comunes compartidos durante los seis meses de la lactancia, siendo los más prevalentes en las semanas 1, 4, 8 y 24: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*. Las proteobacterias con cantidades elevadas desde el comienzo de la lactancia y la leche de transición (semana 1 a 8, 40 a 54 %); mientras que, en la semana 24, el filo *Firmicutes* dominó con un 53 %.

A nivel de género (Fig. B): Se registra un núcleo predominante, durante la totalidad de la lactancia, de nueve géneros, compuestos por *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bifidobacterium*, *Erysipelatoclostridium*, *Brevundimonas*, *Flavobacterium* y *Rhodococcus*. Este nivel representa el 75,5 % de cantidad relativa en la semana 1. El 74,8 % de cantidad relativa en la semana 4, el 77,5 % de cantidad relativa en la semana 8 y el 64 % de la cantidad relativa en la semana 24.

*Streptococcus* registra cantidad relativa media más alta en las semanas 1 y 24 (17,3 % y 24 % respectivamente), mientras que *Pseudomonas* predomina en la semana 4 (22 %) y la

semana 8 (19 %). *Bifidobacterium* registra cantidad relativa media más alta en la semana 4 del 5 %. De manera similar, *Lactobacillus*, aunque no se identifica en el microbioma "central", tuvo la cantidad relativa más alta en la semana 4, del 1,4 %.

El microbioma lácteo es altamente específico en cada individuo y está sujeto a variaciones intraindividuales a lo largo del tiempo<sup>35</sup>. A medida que avanza la lactancia, la concentración bacteriana total aumenta mientras que la diversidad bacteriana disminuye. Esta variación a lo largo del período de lactancia puede explicarse en parte por la vía de inoculación retrógrada, ya que una mayor abundancia de bacterias orales típicas, se detectaron en la leche a partir de las últimas etapas<sup>16</sup>.

La información ha sido recopilada de estudios de mediana y pequeña escala, ya que el tópico se encuentra en constante análisis y discusión, por lo tanto, no se dispone de estudios de gran envergadura que tengan validez científica.

## Factores que influyen en la composición de la leche humana

### Edad gestacional

La edad gestacional se ha identificado como un factor que puede influir y determinar cambios en la composición de la MLH. En comparación con las madres que dieron a luz en la fecha prevista, se observaron niveles más altos de *Enterococcus* y niveles más bajos de *Bifidobacterium* en la leche de madres que dieron a luz prematuramente. A pesar de estas diferencias relativas en la abundancia, se encontró que *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus* estaban presentes en la leche de madres tanto de bebés prematuros como a término. Además, se encontró que la leche de las madres de bebés extremadamente prematuros tenía una carga bacteriana general más baja que la de las madres de bebés prematuros tardíos<sup>16,17,36</sup>.

### Tipo de parto

Se ha documentado evidencia que indica que el parto por vía vaginal tiene una mayor diversidad bacteriana que el parto por cesárea. Además, los partos vaginales se asociaron con concentraciones más altas de *Bifidobacterium*. Las madres que dieron a luz mediante cesárea electiva mostraron un cambio de composición significativo en diversidad y riqueza de la MLH. Dieciséis familias de bacterias detectadas en la leche de madres que habían tenido un parto vaginal no se encontraron en la LH de madres que habían tenido un parto por cesárea; además se detectaron cantidades disminuidas de *Leuconostocaceae* y *Streptococcus* y mayores cantidades de *Carnobacteriaceae* y *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Prevotella*, en comparación con aquellas que dieron a luz por vía vaginal.

Esta diferencia ya estaba presente en el calostro y se mantuvo en la leche materna al mes y al sexto mes. Las muestras de leche de madres que dieron a luz por cesárea no electiva mostraron una composición más similar a la leche de madres que dieron a luz por parto vaginal que a la leche de madres que dieron a luz por cesárea electiva.

La profilaxis antibiótica intraparto podría ofrecer una explicación alternativa a las diferencias observadas en la MLH<sup>19,29,37</sup>.

### Sexo biológico del producto de la gestación

Se han informado resultados contrastantes similares para el género infantil, que en algunos estudios pareció afectar la composición de la MLH detectando una mayor abundancia relativa de *Rothia* en la leche de madres de niñas en comparación con la leche de madres de varones; en otro estudio no encontraron diferencias en los perfiles microbianos según el sexo del bebé (*Urbaniak et al* Microbioma. 2016). Aunque se desconoce la causa exacta de estas inconsistencias, diferentes prácticas de recolección, tamaños de muestra y métodos analíticos podrían considerarse posibles factores<sup>16,36,38</sup>.

### Dieta materna

Una dieta rica en calorías y en proteínas animales, azúcar y grasa aumenta la presencia de *Abiotrophia* y *Alloiococcus* en el calostro y de *Parabacteroides* en la leche madura. Por otro lado una dieta rica en fibra como los cereales, legumbres y verduras, y baja en proteína animal, fueron consistentes con la presencia de *Aquabacterium*, *Peptostreptococcus*, *Serratia* en calostro y en leche madura. Una ingesta alta en calorías se asoció positivamente con *Gemella* y *Granulicatella*. En cuanto a alimentos específicos el consumo de verduras fermentadas se asoció con un aumento de *L. plantarum* en la LH y se encontró la presencia de *Rhizobium* como un simbionte en las dietas ricas en legumbres<sup>39</sup>.

Una mayor ingesta de azúcar se asocia con una disminución de *Pseudomonas*, mientras que una mayor ingesta de vitamina B9 se asocia con un aumento de cantidad en la leche. La ingesta total de carbohidratos, disacáridos totales y lactosa se asoció inversamente con *fermicutes*. Otra correlación positiva se encontró entre *Bifidobacterium* y la ingesta de PUFA y ácido linoleico. Por el contrario existe una correlación negativa entre *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* y SFA, MUFA y PUFA.

Un mayor consumo de proteínas se relacionó con una mayor abundancia de *Gemella*, *Bacillus*, *Peptoniphilus* y *Anaerococcus*. Una dieta rica en vitamina C se relaciona positivamente con la presencia de *Staphilococcus*. También es posible que otros componentes de la leche sean capaces de modular su composición microbiana. En mujeres

que consumen mayores cantidades de fibra insoluble en relación con aquellas que la consumen menos hay una mayor presencia de *Rothia*. Un mayor consumo de aminoácidos esenciales se relacionó con una mayor abundancia de *Proteobacterias*. Las concentraciones de poliamina putrescina están correlacionadas con los niveles de gammaproteobacterias y una correlación fuertemente negativa con otras proteobacterias, *clostridia* y *actinobacterias*<sup>16,39</sup>.

El consumo de probióticos en la etapa prenatal tiene un impacto en la cantidad y variedad de bacterias presentes en la MLH, siendo las cantidades de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* significativamente más altas en el calostro y la leche madura en mujeres con suplementación de probióticos en comparación de aquellas que no han tenido ningún tipo de suplementación. Algunas cepas probióticas demostraron ser efectivas para reducir el número de *S. aureus* en la leche de madres con mastitis o aumentar la abundancia relativa de *lactobacilos* y *bifidobacterias*. Esta diferencia podría deberse a la capacidad de los probióticos aislados de la LH para metabolizar directamente los HMO<sup>16,40,41,42</sup>.

### Índice de Masa Corporal (IMC)

Frente a esta variable la evidencia se ha mostrado contradictoria. Mientras algunos autores afirman que las mujeres con IMC elevado difieren respecto a los m.o. presentes en mujeres con IMC disminuido o en rango normal, hay otros estudios que no lograron concluir una asociación clara.

Quienes están a favor de esta teoría sostienen que las diferencias entre la diversidad y la composición de la MLH entre madres obesas y con peso normal pueden influir. Se deduce que las madres con sobrepeso y obesidad producen leche con mayor cantidad de m.o., pero menor diversidad microbiana y recuentos más bajos de *Bifidobacterium* y un nivel más alto de *Staphylococcus*, *Akkermansia* y *Granulicatella* que las mujeres con peso normal. También se ha observado que las madres obesas muestran una mayor incidencia de *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Brevundimonas* y menor concentración de *Lactobacillus* y *Streptococcus* en la leche en comparación con madres con sobrepeso o peso normal. En consecuencia, estos cambios pueden afectar el MLH e influir aún más en el desarrollo de la microbiota del lactante<sup>16,25,29,39,43</sup>.

### Virus de inmunodeficiencia humana (VIH)

El virus del VIH puede producir alteraciones en la MLH. Se observó una mayor diversidad de m.o. en la leche de las madres VIH positivo y un recuento más alto de *Lactobacillus* en comparación con madres VIH negativo, las cuales tuvieron mayor abundancia de *estafilococos* en la leche. La frecuencia de *S. hominis* y *S. aureus* se redujeron de manera

estadísticamente significativa en muestras con ARN del VIH detectado. La evidencia acumulada sugiere que los virus eucariotas a menudo interactúan directa e indirectamente con las bacterias y, por lo tanto, su presencia en la LH puede no solo modular su viroma sino también funcionar sinérgicamente con el bacterioma de la LH.

Existen diferencias entre las madres infectadas por el VIH y las no infectadas en la composición de oligosacáridos de la leche. La composición de HMO de la LH está alterada en mujeres VIH positivas. La abundancia relativa de 3'-sialilactosa (3'SL), 3-fucosilactosa (3FL) y 2'-fucosilactosa (2'FL) tiene una tendencia hacia un aumento en la LH de madres VIH positivas. Por el contrario, la lacto-N-tetraosa (LNT) y la lacto-N-neotetraosa (LNnT) de la LH tienden a aumentar en madres VIH negativas. En madres VIH negativas, los aumentos de 3'-sialilactosa se correlacionaron con aumentos relativos de *Enterococcaceae* y *Fusobacteriaceae* en las heces del lactante. Por el contrario, cuando observamos a madres VIH positivas, encontramos que un aumento de lacto-N-fucopentaosa 1 (LNFP1) en la LH provocó un aumento de *Bifidobacteriaceae* en las heces del lactante.

La lacto-N-tetraosa, que está relativamente aumentada en madres VIH negativas, también se asocia significativamente con una mayor madurez microbiana en las heces del bebé. Por el contrario, la 3-fucosilactosa aumenta relativamente en la leche materna de las madres VIH positivas y se asocia significativamente con una disminución de la madurez microbiana de las heces infantiles<sup>44</sup>.

### Hipertensión arterial

El estado prehipertensivo gestacional es un factor que contribuye a una menor diversidad bacteriana y una menor abundancia relativa de *Lactobacillus* en la LH<sup>16,45</sup>.

### Celiaquía y alergias

La enfermedad celíaca y los trastornos alérgicos tienen impacto en la composición de la MLH. La leche de madres sanas contiene una mayor cantidad de *Bifidobacterium* y *Bacteroides fragilis* y una concentración más alta de citoquina tolerogénica TGF-β1 que la leche de madres celíacas. Además, se encontró que la leche de madres sanas tenía una mayor cantidad de *Bifidobacterium* que la leche de madres alérgicas<sup>16,46</sup>.

### Infecciones bacterianas y virales

Se ha encontrado una correlación entre la mastitis de la lactancia y el absceso mamario y el predominio de *S. aureus* en la leche de las madres infectadas, la ausencia total de *Bifidobacterium breve* y, en general, una menor diversidad bacteriana en la leche. Además, solo se han encontrado *Salmonella enterica* y *Burkholderia ambifaria* en la leche de madres

con absceso mamario, mientras que varias *bifidobacterias* y *lactobacilos* están relacionadas con la ausencia de mastitis y absceso mamario.

Los resultados para la mastitis, los abscesos mamarios y las infecciones neonatales son similares cuando se examinan por separado. Estas tres infecciones nunca presentaron *Bifidobacterium breve*. Se encontró que *S. enterica* y *B. ambifaria* estaban relacionadas con abscesos mamarios e infecciones neonatales, pero no con mastitis. Específicamente, se descubrió que *Corynebacterium kroppenstedtii* estaba relacionado con abscesos mamarios. Otros dos tipos de *Corynebacterium*, *Corynebacterium propinquum* y *Corynebacterium renale*, fueron vinculados a la mastitis.

Las bacterias más comunes en la microbiota mamaria y láctea también son las más comunes en las enfermedades maternas y/o infantiles. Los factores ambientales pueden cambiar el ecosistema de la microbiota de la mama y la leche, el comportamiento de los m.o. o la inmunidad de las mucosas de la madre y/o del recién nacido, pasando de la simbiosis a la infección<sup>16,19,27,29</sup>.

### Uso de antibióticos

La administración de antibióticos es uno de los principales impulsores de la disbiosis en las superficies mucosas y la glándula mamaria lactante no parece ser una excepción. La especie *Bifidobacterium* solo se encontró en la LH de madres que no habían sido tratadas con antibióticos, mientras que la especie *Lactobacillus* es más abundante en la leche de mujeres que no han sido tratadas con antibióticos durante el embarazo, el parto o la lactancia<sup>16,17,19,37,47</sup>.

### Ubicación geográfica

Varios estudios han explorado los determinantes ambientales de la composición y diversidad microbiana, entre los cuales se ha demostrado que las diferencias geográficas y de estilos de vida explican un cierto grado de variación interindividual. Se encontraron diferencias de población en Irán, donde los recuentos totales de *Lactobacillus* son mayores en la leche de las madres que residen en áreas rurales en comparación con las de áreas urbanas. Las mujeres cazadoras-recolectoras de la República Centroafricana, reportan niveles más bajos de *Lactobacillus* que las de horticultores. Los géneros más abundantes eran similares a los encontrados en la leche de las mujeres occidentales. Sin embargo, a pesar de la superposición de varios géneros, se evidencia una menor abundancia relativa de *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Veillonella* y *Serratia* en la leche de madres de la República Centroafricana en comparación con las madres estadounidenses o suizas. La

mediana del recuento de *Lactobacillus* en madres rurales es mayor que en las madres urbanas.

Hay varias razones que pueden explicar por qué la ubicación geográfica, incluso dentro del mismo país, podría influir en la composición bacteriana de la LH. La etnia, el origen genético, la dieta y el clima varían según las regiones, pero en el mismo pueblo o ciudad suelen coexistir personas con diferente origen étnico, origen genético, edad, dieta, vivienda o contacto con otras personas y animales. El microbioma ambiental (aire, superficies, agua, plantas, animales, alimentos, desechos, etc.) refleja las influencias existentes en un lugar determinado y puede generar diferencias en la composición del microbioma en cualquier parte del cuerpo. Los experimentos para dilucidar el impacto de la ubicación geográfica en el microbioma de la leche son muy desafiantes debido a la gran cantidad de factores que pueden sesgar la interpretación de los datos [16,17,18,19,29,48](#).

Título	Autores	País	Año	Tipo	Principales hallazgos
<i>Microbiota de la glándula mamaria</i>	Osorio, Lina María; Umbarila, Ana Solanye	Colombia	2015	Review	La leche materna contiene una diversidad de microorganismos que pueden colonizar el intestino del lactante, influyendo en su microbiota intestinal, y su salud futura. La transferencia de esa microbiota al tracto digestivo del lactante se relaciona con beneficios como mejor tolerancia digestiva, función cerebro - intestino - microbiota mejorada e inmunidad fortalecida. El bacterioma de la leche materna desempeña roles antiinfecciosos, inmunomoduladores y metabólicos. Varios factores como la salud materna, la dieta, la edad gestacional, el modo de parto, la etapa de lactancia, entre otros, afectan la composición de la microbiota de la LH. Tres hipótesis que explican la presencia de microorganismos en la leche materna: vía enteromamaria, vía de inoculación retrógrada y microbiota mamaria residente.
<i>Microbiota de la leche humana y su impacto en la salud humana</i>	Rebeca I. González-Rodríguez; Irma Jiménez-Escobar; Pedro Gutiérrez-Castrellón	México	2020	Review	
<i>Factors influencing the microbial composition of human milk, Seminars in Perinatology</i>	Mantziari, Anastasia; Rautava, Samuli	Finlandia	2021	Review	
<i>Breast Milk, a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health</i>	Dempsey, Eugene; Lyons, Katryona E.; Ryan, Anthony C.; Ross, Paul R.; Stanton, Catherine	Irlanda	2020	Review	La secuenciación de próxima generación ha revelado una diversidad microbiana compleja en la leche materna. La estandarización de técnicas de recolección y almacenamiento de muestras de leche es crucial para evitar la

<i>Milk Microbiota: What Are We Exactly Talking About?</i>	Addis, María Filipa; Bogoni, Cristina I.; Chassard, Christophe; Grant, Celine D.; Incluso, Sergine; Le Loir, Yves; Nader Macías, María; Oikonomou, Georgios	Francia	2020	Review	contaminación y obtener resultados precisos en los estudios del microbioma de la leche. Se ha sugerido la existencia de una microbiota de leche central compartida entre humanos y animales. Entender los factores que moldean la microbiota de la leche y su impacto en la salud abrirá nuevas estrategias para el manejo de la salud infantil y animal
<i>The hidden universe of human milk microbiome: origin, composition, determinants, role, and future perspectives</i>	Alessandra Consales; Jacopo Cerasani; Gabriele Sorrentino; Daniela Morniroli; Lorenzo Colombo; Fabio Mosca; Maria Lorella Gianni	Italia	2022	Review	Existe un debate en curso sobre si la glándula mamaria alberga un microbioma residente. Se reconoce la necesidad de estandarizar los métodos de recolección, almacenamiento, procesamiento, extracción de ADN y secuenciación de leche materna para garantizar precisión y reproducibilidad en los resultados de los estudios.
<i>Human Milk's Hidden Gift: Implications of the Milk Microbiome for Preterm Infants' Health</i>	Aceti, Adriana; Beghetti, Isadora; Biagi, Elena; Brigidi, Patrizia; Corvaglia, Luigi; Martini, Silvia	Estados Unidos	2018	Review	El calostro y la leche de transición cambian rápidamente y son distintos en muchos aspectos de la leche madura. La leche madura sigue siendo relativamente similar en composición con cambios sutiles a lo largo de la lactancia. La composición de nutrientes también es diferente entre la leche materna a término y la prematura.
<i>Components of human breast milk: from macronutrient to microbiome and microRNA</i>	Su Yeong Kim; Dae Yong Yi	Corea	2020	Review	La LH es la fuente de nutrición más importante para los lactantes e incluye microbiomas y microARN para el crecimiento, el desarrollo y la inmunidad. Algunos estudios sugirieron que los géneros <i>Staphylococcus</i> y <i>Streptococcus</i> pueden ser universalmente predominantes en la LH, pero el origen de la microbiota aún sigue siendo controvertido.
<i>Human Milk Oligosaccharides and Immune System Development. Nutrients</i>	Julio Plaza-Díaz; Luis Fontana; Ángel Gil	España	2018	Review	La importancia de los HMO puede explicarse por sus efectos inhibidores sobre la adhesión de microorganismos a la mucosa intestinal, el crecimiento de patógenos mediante la producción de bacteriocinas y ácidos orgánicos y la expresión de genes implicados en la inflamación.
<i>Human Milk Microbiome and Microbiome-Related Products:</i>	Jie Ma; Debra J. Palmer; Donna Geddes; Ching Tat Lai; Lisa Stinson	Australia	2022	Review	La LH proporciona una amplia gama de componentes nutricionales y bioactivos que son vitales para el crecimiento infantil. Los HMO, los ácidos grasos de cadena corta, las

<i>Potential Modulators of Infant Growth</i>					proteínas antimicrobianas, influyen en el microbioma intestinal del bebé.
<i>Human breast milk: A review on its composition and bioactivity</i>	Nicholas J Andreas; Beate Kampmann; Kirsty Mehring Le-Doare	Inglaterra	2015	Review	Además de proporcionar una fuente de nutrición para los lactantes, la LH contiene una gran cantidad de componentes biológicamente activos. Estas moléculas poseen diversas funciones, tanto guiando el desarrollo del sistema inmunológico de los lactantes como de la microbiota intestinal.
<i>Comprehensive Analysis of the Effect of Probiotic Intake by the mother on Human Breast Milk and Infant Fecal Microbiota</i>	Do Young Shin; Jong Sung Park; Dae Yong Yi	Corea	2021	Ensayo clínico (n=25)	La LH es una fuente importante de microflora colonizadora para el lactante. En el estudio se detectaron varios géneros y especies bacterianas importantes en las muestras de MLH y materia fecal infantil después del tratamiento con probióticos, lo que ilustra cambios complejos en ambos microbiomas durante el tratamiento.
<i>Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors</i>	Shirin Moossavi; Shadi Sepehri; Bianca Robertson; Lars Bode; Sue Goruk; Catherine J.Field; Lisa M. Lix; Russell J. de Souza; Allan B. Becker; Piushkumar J. Mandhane; Stuart E.Turvey; Padjama Subbarao; Theo J. Moraes; Diana L. Lefebvre; Malcolm R. Sears; Ehsan Khafipour; Meghan B. Azad.	Canadá	2019	Ensayo clínico (n=393)	A los tres o cuatro meses post parto la microbiota láctea está dominada por proteobacterias y firmicutes inversamente correlacionadas con alta variabilidad interindividual. Las cantidades relativas de Proteobacterias y Firmicutes se correlacionaron inversamente. A nivel de género, los taxones más abundantes fueron Streptococcus (16% ± 17%), Ralstonia (5% ± 3%) y Staphylococcus (5% ± 11%).
<i>Impact of delivery mode on the colostrum microbiota composition</i>	Marco Toscano; Roberta De Grandi; Diego Giampietro Peroni; Enzo Grossi; Valentina Facchin; Pasquale Comberiati; Lorenzo Drago	Italia	2017	Ensayo clínico (n=29)	La transición del calostro a la leche madura influye en la composición bacteriana. Estos hallazgos ponen de relieve la naturaleza extremadamente dinámica de la leche materna humana como resultado de influencias externas e internas.
<i>The Composition of Human Milk and Infant Faecal Microbiota Over the First Three Months of Life: A Pilot Study</i>	Murphy Kiera; Curley David; O'Callaghan Tom F; O'Shea Carol A; Dempsey Eugene M; O'Toole Paul W; Ross R Paul; Ryan C Anthony; Stanton Catherine.	Irlanda	2017	Ensayo clínico (n=10)	Se detectaron 12 géneros predominantes en la leche materna, el núcleo estaba compuesto por <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Elizabethkingia</i> , <i>Variovorax</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Brevundimonas</i> , <i>Chryseobacterium</i>

					y <i>Enterobacter</i> . Las poblaciones bacterianas cultivables predominantes se han identificado como especies de <i>Staphylococcus</i> y <i>Streptococcus</i> , mientras que también se han aislado bacterias lácticas y <i>bifidobacterias</i> .
<i>Repertoire of human breast and milk microbiota: a systematic review.</i>	Amadou Togo; Jean-Charles Dufour; Jean-Christophe J.-C.; Gregorio Dubourg; Didier Raoult; Mateo Millones	Francia	2019	Review	La diversidad microbiana juega un papel importante con efecto protector contra la diarrea, la enterocolitis necrotizante, la otitis media y las infecciones respiratorias a corto plazo y contra la leucemia, la maloclusión, la enfermedad inflamatoria intestinal, la desnutrición, incluido el kwashiorkor, la obesidad y la diabetes a largo plazo. Hasta la mitad de las muertes causadas por infecciones en niños de 6 a 23 meses pueden estar asociadas con la ausencia de una lactancia materna adecuada.
<i>The human milk microbiome: who, what, when, where, why, and how?</i>	Lisa F Stinson; Azhar S M Sindi; Ali S Cheema; Ching Tat Lai; Beverly S Mühlhäusler; Mary E Wlodek; Matthew S Payne; Donna T Geddes	Australia	2021	Review	La introducción de nuevos medios, suplementos y condiciones de incubación han permitido aislar bacterias que antes pasaban desapercibidas. Han revelado que muchas bacterias que antes se consideraban no cultivables ahora pueden aislarse de ecosistemas complejos cuando se proporciona una combinación adecuada de condiciones de cultivo.
<i>The Microbiota of the Human Mammary Ecosystem</i>	Leónides Fernández; Pia S. Pannaraj; Samuli Rautava; Juan M. Rodríguez	España	2020	Review	La MLH es una comunidad diversa, siendo los géneros más dominantes <i>Staphylococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptococcus</i> y <i>Lactobacillus</i> . Existen diferencias en los componentes bioactivos, macronutrientes, citocinas, enzimas, proteínas y factores inmunológicos entre la leche prematura y a término y entre la leche de madres que dan a luz por parto vaginal y por cesárea.
<i>Human milk microbiota profiles in relation to birthing method, gestation and infant gender</i>	Camilla Urbaniak; Michelle Angelini; Gregory B Gloor; Gregor Reid	Canadá	2016	Ensayo clínico (n=39)	Los factores asociados con las variaciones de la MLH son complejos y pueden incluir la dieta materna, el IMC, el modo de parto y el sexo del lactante, etapa de lactancia, geografía, HTA y mastitis. La dieta materna puede dar forma a la estructura de la comunidad bacteriana de la leche materna. La dieta puede ejercer esta influencia a través de una variedad de modos;
<i>Breastfeeding-associated microbiota in human milk following supplementation with Lactobacillus rhamnosus GG, Lactobacillus acidophilus La-5, and</i>	Melanie Rae Simpson; Ekaterina Avershina; Ola Storro; Roar Johnsen; Knot Rudi; Torbjorn Oien	Noruega	2018	Ensayo clínico (n=472)	

<i>Bifidobacterium animalis ssp. lactis Bb-12</i>					alterando la composición de los componentes de la leche o dictando la representación de grupos bacterianos específicos en el tracto gastrointestinal. La importancia de la ubicación geográfica, la cual demostró ser el factor con mayor evidencia a favor en el estudio. El consumo de probióticos por parte de las madres, se relaciona con una mayor presencia de <i>bifidobacterias</i> y <i>lactobacilos</i> en la leche humana.
<i>Human Milk Microbial Community Structure Is Relatively Stable and Related to Variations in Macronutrient and Micronutrient Intakes in Healthy Lactating Women</i>	Williams Janet E; Carrothers Janae M; Lackey Kimberly A; Beatty Nicola F; York Mara A; Brooker Sarah L; Shafii Bahman; Price William J; Settles Mathew L; McGuire Mark A; McGuire Michelle K	Estados Unidos	2017	Ensayo clínico (n=104)	
<i>The influence of impact delivery mode, lactation time, infant gender, maternal age and rural or urban life on total number of Lactobacillus in breast milk Isfahan – Iran</i>	Mansoureh Taghizadeh; Maryam Mirlohi; Farkhondeh Poursina; Golnoush Madani; Mehri Khoshhali; Nimah Bahreini; Hajieh Ghasemian Safaei	Iran	2015	Ensayo clínico (n=40)	
<i>Human milk microbiota development during lactation and its relation to maternal geographic location and gestational hypertensive status</i>	Yiwan; Jiajing Jiang	China	2019	Ensayo clínico (n=117)	
<i>Bacterial microbiome of breast milk and child saliva from low-income Mexican-American women and children</i>	Veronica Dave; Kelly Street; Stephen Francis; Asa Bradman; Lee Riley; Brenda Eskenazi; Nina Holland	Estados Unidos	2016	Ensayo clínico cohortes (n=10)	Hay correlaciones entre el IMC antes del embarazo, la disminución de la abundancia relativa de <i>Streptococcus</i> y el aumento de la diversidad microbiana en la leche materna. No está claro por qué el IMC antes del embarazo puede afectar la diversidad del microbioma de la leche materna. Es posible que estos efectos estén mediados en parte por la variación relacionada con el IMC en el microbioma de la leche materna.
<i>Bifidobacterium bifidum and the infant gut microbiota: an intriguing case of microbe-host co-evolution</i>	Sabrina Duranti; Gabriele Andrea Lugli; Christian Milani; Kieran James; Leonardo Mancabelli; Francesca Turrone; Giulia Alessandri; Marta Mangifesta;	Italia	2019	Ensayo clínico (n=50)	<i>Bifidobacterium bifidum</i> es parte de un grupo compuesto por aquellas cepas de <i>bifidobacterias</i> que típicamente se identifican dentro del intestino infantil. Se destaca la presencia de cuatro grupos de especies de <i>bifidobacterias</i> con un alto grado de coexistencia tanto en

	Walter Mancino; Maria Cristina Ossiprandi; Alexandra Iori; Claudio Rota; Giancarlo Gargano; Sergio Bernasconi; Francesco Di Pierro; Douwe van Sindelen; Marco Ventura				muestras de lactantes como de leche. La leche materna representa un vector clave para la transmisión vertical de <i>bifidobacterias</i> . La alimentación cruzada entre diferentes cepas de <i>bifidobacterias</i> cotrasmitidas verticalmente indica que los distintos taxones coevolucionaron específicamente para maximizar la colonización del intestino del lactante.
<i>Maternal HIV infection influences the microbiome of HIV-uninfected infants</i>	Jeffrey Bender; Fan Li; Shoria Martelly; Erin Byrt; Vanessa Rouzier; Margarita Leo; Nicole Tobin; Pia Pannaraj; Helty Adisetiyo; Adrienne Rollie; Chintda Santiskulvong; Shaun Wang; Chloe Autran; Lars Bode; Daniel Fitzgerald; Luisa Kuhn; Grace M Aldrovandi	Estados Unidos	2016	Ensayo clínico cohortes (n=50)	La infección materna por VIH se asoció con cambios en el microbioma de los lactantes no infectados expuestos al VIH y los HMO están asociados con especies bacterianas específicas en estos individuos de alto riesgo. Las diferencias observadas en la composición de la leche materna aún no están claras, pero también pueden estar asociadas con la infección por VIH en sí o con los medicamentos antirretrovirales.
<i>Human milk composition differs in healthy mothers and mothers with celiac disease</i>	Marta Olivares; Simone Albrecht; Giada De Palma; María Desamparados Ferrer; Gemma Castillejo; Henk A. Schols; Yolanda Sanz	Alemania	2015	Ensayo clínico cohortes (n=24)	La leche materna de las madres con enfermedad celiaca se caracteriza por una abundancia reducida de compuestos inmunoprotectores y <i>bifidobacterias</i> . En teoría, la reducción de estos componentes podría disminuir los efectos protectores de la lactancia materna sobre el riesgo futuro del niño de desarrollar enfermedad celiaca.
<i>Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors</i>	Soto Ana; Martin Virginia; Jimenez Esther; Mader Isabelle; Rodriguez Juan M; Fernandez Leonides	España	2014	Ensayo clínico (n=160)	La presencia de <i>lactobacilos</i> o <i>bifidobacterias</i> es significativamente menor en aquellas mujeres que reciben antibioterapia durante el embarazo o la lactancia. La presencia de <i>lactobacilos</i> viables, particularmente <i>L fermentum</i> y <i>L salivarius</i> , es mayor en el grupo de mujeres que no reciben antibióticos durante el embarazo y/o la lactancia.
<i>Necrotising enterocolitis and mortality in preterm infants after introduction of probiotics: a quasi-experimental study.</i>	Noor Samuels; Rob van de Graaf; Jasper V. Been; Rogier C. J. de Jonge; Lidwien M. Hanff; René M. H. Wijnen; René F. Kornelisse; Irwin K. M. Reiss; Marijn J. Vermeulen	Países bajos	2016	Review	La enterocolitis necrotizante es una enfermedad multifactorial con un papel crucial para el microbioma y la inmadurez del tracto gastrointestinal y del sistema inmunológico. Los probióticos presentes de forma natural en la leche materna pueden ayudar en la prevención de esta enfermedad. La ingesta de probióticos puede modificar la microbiota de la leche materna lo

					que puede traer beneficios a la salud del lactante
<i>Varied Pathways of Infant Gut-Associated Bifidobacterium to Assimilate Human Milk Oligosaccharides: Prevalence of the Gene Set and Its Correlation with Bifidobacteria-Rich Microbiota Formation</i>	Mikiyasu Sakanaka; Aina Gotoh; Keisuke Yoshida; Toshitaka Odamaki; Hiroka Koguchi; Jin-Zhong Xiao; Motomitsu Kitaoka; Takane Katayama	Japón	2019	Review	El microbioma intestinal del bebé generalmente es rico en el género <i>Bifidobacterium</i> . La LH contiene prebióticos naturales, HMO, y de los diferentes microorganismos intestinales, las <i>bifidobacterias</i> asociadas al intestino infantil son las más eficientes para asimilar los HMO. La formación del microbioma intestinal infantil se ve afectada por el nivel de consumo de HMO por parte de las <i>bifidobacterias</i> en el intestino infantil.
<i>Anti-Inflammatory and Anti-Allergic Properties of Colostrum from Mothers of Full-Term and Preterm Babies: The Importance of Maternal Lactation in the First Days.</i>	Francesca Garofoli; Elisa Civardi; Camila Pisoni; Micol Angelini; Stefano Ghirardello	Italia	2023	Review	El calostro es pobre en grasas y carbohidratos, con proteínas y compuestos bioactivos más grandes que la leche madura. Desempeña un papel crucial en el impulso de la inmunidad de los recién nacidos, transfiriendo aquellos factores inmunológicos que ayudan al correcto desarrollo del sistema inmunitario neonatal y apoyan el establecimiento de un microbioma intestinal saludable.
<i>Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi.</i>	Lorenzo Drago; Marco Toscano; Roberta De Grandi; Enzo Grossi; Ezio Padovani; Diego G Peroni	Italia	2016	Ensayo clínico (n=50)	El calostro y la leche madura son diferentes no sólo por el contenido de proteínas y grasas sino también por la composición de la microbiota. Se cree que algunos géneros bacterianos son esenciales en la primera fase de la lactancia, y por ello tienen un papel fundamental en el calostro, mientras que otros microorganismos son fundamentales en la nutrición a largo plazo de los recién nacidos, teniendo en consecuencia un papel importante en la leche madura.
<i>Unveiling the dynamics of the breast milk microbiome: impact of lactation stage and gestational age</i>	Parul Singh; Noora Al Mohannadi; Selvasankar Murugesan; Fajr Almarzooqi; Basirudeen Syed Ahamed Kabeer; Alexandra Katharina Marr; Tomoshige Kino; Tobias Brummaier; Annalisa Terranegra; Rose McGready; François Nosten; Damien	Estados unidos	2023	Ensayo clínico casos y controles (n=48)	Las comunidades microbianas se volvieron cada vez más diversas y composicionalmente distintas a medida que la LH maduró. Las muestras de MO de prematuros mostraron una mayor riqueza de especies con una abundancia significativamente mayor de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> , <i>Propionibacterium acnés</i> y especies de <i>Corynebacterium</i> no clasificadas. Mientras que las muestras a término se enriquecieron en <i>Staphylococcus epidermidis</i> , OD1 no clasificado y <i>Veillonella</i> no clasificado, entre otros.

	Chaussabel; Souhaila Al Khodor				La etapa de lactancia es el principal factor que influye en el microbioma de la leche humana.
<i>The human milk microbiome aligns with lactation stage and not birth mode.</i>	Katriona E. Lyons; Carol-Anne O.' Shea; Ghjuvan Grimaud; C. Anthony Ryan; Eugene Dempsey; Alan L. Kelly R. Paul Ross; Catherine Stanton	Irlanda	2022	Ensayo clínico cohortes (n=80)	Se observó una disminución en la diversidad de la microbiota láctea a lo largo de la lactancia.

**Objetivo 2:** Explicar los mecanismos por los cuales la microbiota de la leche materna actúa en la inmunidad del intestino del lactante.

### Microbiota central

El sistema gastrointestinal es inicialmente colonizado por m.o. anaerobios facultativos, tales como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* y *Lactobacillus*. Estos m.o. pioneros establecen un ambiente propicio para la sucesión de m.o. anaerobios estrictos, como *Bifidobacterium*, *Clostridium* y *Bacteroides*, como se ha documentado previamente<sup>49</sup>.

La microbiota del recién nacido resulta de una simbiosis con la flora microbiana de su entorno, especialmente con la flora bacteriana de la madre, particularmente con la lactancia materna. En el ámbito intestinal, el espectro de la comunidad bacteriana varía en cada segmento del intestino, desde el ciego hasta el recto. No obstante, considerada en su totalidad, la composición de la flora intestinal se mantiene relativamente estable<sup>50</sup>.

La colonización microbiana del intestino infantil desempeña un papel crucial en la salud a lo largo de toda la vida. En los recién nacidos sanos, la composición de la microbiota intestinal experimenta cambios significativos hasta los tres años de edad, momento en el que se establece en un patrón anaeróbico similar al de los adultos. Estas alteraciones se asocian con una mayor susceptibilidad a enfermedades autoinmunes, como la diabetes y la enfermedad inflamatoria intestinal. La colonización del intestino del lactante es un proceso complejo que depende de múltiples factores interrelacionados, previamente mencionados.

Los primeros años de vida pueden representar una ventana crítica para la impronta bacteriana de las bacterias de la LH que conducen a un ensamblaje comunitario no aleatorio. La compleja red que se forma durante los primeros 6 meses de vida se basa en relaciones bacterianas interdependientes en el intestino infantil. Las bacterias de la LH que siembran el intestino, primero influyen y seleccionan las bacterias que siguen, dejando una huella que se puede detectar incluso en la edad adulta. Estos eventos tempranos de siembra bacteriana pueden ser un mecanismo por el cual la LM protege a los niños<sup>51</sup>.

Entre el primer y el séptimo día después del nacimiento, el microbioma del intestino experimenta un rápido y ordenado crecimiento, estableciendo un ecosistema microbiano relativamente maduro. Este ecosistema está principalmente compuesto por *Proteobacterias*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Actinobacterias* para el séptimo día de vida. Paralelamente, los neutrófilos, células clave del sistema inmunitario intestinal, muestran un aumento exponencial, acompañado por el desarrollo de monocitos y macrófagos, que también alcanzan la madurez alrededor del séptimo día después del nacimiento.

La colonización microbiana intestinal y la diversidad de la microbiota conducen a la inducción de células T reguladoras intestinales (Treg) y citoquina reguladora IL-10, que son necesarias para limitar la inducción de células proinflamatorias T helper 17 (Th17) y Th1T.

A su vez, dicha colonización durante los primeros años de vida, puede mantener bajos los niveles de IgE y facilitar una reducción de la susceptibilidad a las reacciones alérgicas inducidas por vía oral. Después de los 2 años de edad, la cantidad bacteriana de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* es superior al 90% de la carga bacteriana total, y la microbiota intestinal se desarrolla gradualmente hasta niveles adultos. La maduración postnatal de las células inmunitarias y de la microbiota intestinal se produce en paralelo para adaptarse al complejo entorno intestinal.

La diversidad y cantidad de m.o. en el intestino desempeñan un papel crucial en el desarrollo del sistema inmunitario. Estos m.o., junto con sus subproductos, interactúan con las células inmunitarias para establecer y mantener la tolerancia del organismo, al mismo tiempo que influyen en las respuestas inmunitarias innatas tempranas. Además, influyen en la generación de células inmunitarias, citoquinas y factores inmunológicos, así como en el desarrollo del sistema inmunitario innato. La microbiota intestinal puede ejercer tanto funciones patógenas como protectoras a través de receptores específicos de reconocimiento de patrones (PRR), vías de señalización de patrones moleculares asociados a microbios (MAMP) y las respuestas inmunitarias subsiguientes.

La diversidad de bacterias gramnegativas con distintas alteraciones en sus lipopolisacáridos influye en su capacidad para activar receptores tipo Toll (TLR), lo que resulta en respuestas inmunitarias variadas. Por ejemplo, se ha observado que la regulación de la expansión de las células T asesinas naturales (iNKT) se relaciona con la reducción de la expresión de la quimiocina CXCL16 en presencia de esta diversa flora intestinal. Además, se ha encontrado que la diversidad de la microbiota intestinal determina el nivel de inmunoglobulina E (IgE) en adultos, lo cual es relevante en enfermedades alérgicas atópicas y en la inmunidad parasitaria, donde los anticuerpos IgE desempeñan un papel fundamental. En la infancia

temprana, se ha observado que una unión reducida de IgA a las bacterias intestinales se relaciona con una mayor susceptibilidad al desarrollo de asma y alergias. La microbiota intestinal también puede facilitar el proceso de maduración de los linfocitos y la secreción de inmunoglobulina A (IgA). Por ejemplo, la suplementación con *Bifidobacterium infantis* ha demostrado inhibir las respuestas de las células T helper tipo 2 y T helper tipo 17, al tiempo que estimula la producción de interferón  $\beta$  en bebés amamantados, lo que indica el establecimiento de una respuesta inmunológica reguladora positiva. Las bacterias beneficiosas inducen la estimulación de la apoptosis, la síntesis de especies reactivas de oxígeno y la señalización de receptores tipo Toll para controlar la respuesta inflamatoria y ayudar a establecer defensas inmunitarias innatas y mejorar el reconocimiento de patógenos<sup>52</sup>.

La microbiota intestinal juega un papel crucial en el proceso digestivo y la regulación metabólica del organismo. A través de bacterias como *Lactococcus*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, transforma compuestos inactivos presentes en la dieta en moléculas bioactivas. Un ejemplo destacado es la conversión de ciertas isoflavonas de la soja en compuestos con actividad estrogénica, como el equol 22. Estos m.o. intestinales también influyen en el desarrollo y el funcionamiento del sistema inmunológico. Cualquier desequilibrio en esta relación simbiótica con el organismo puede desregular el sistema inmunológico, lo que a su vez puede contribuir a trastornos inflamatorios y autoinmunes crónicos.

Además, la microbiota intestinal tiene un efecto estimulante en la proliferación de las células epiteliales y en el mantenimiento de las uniones intercelulares estrechas, fortaleciendo de esta manera la función del epitelio como barrera física contra agentes externos. Las interacciones entre la microbiota y las células del sistema inmunitario innato se realizan a través de receptores que reconocen patrones moleculares microbianos (como TLR, NODs, inflammasomas) o metabolitos (como triptófano, indoles, butirato) producidos por la microbiota. Estos estímulos activan tanto las funciones de barrera mencionadas anteriormente como la síntesis de otros mediadores (como citocinas, moléculas co-estimuladoras, etc.), regulando así la respuesta de las células inmunitarias especializadas del tejido linfoide asociado al intestino para prevenir la invasión de patógenos y favorecer el desarrollo de tolerancia a antígenos inocuos.

La flora intestinal y sus productos metabólicos desempeñan un papel crucial en la transmisión de señales neuronales y endocrinas que influyen en órganos y tejidos distantes. De esta manera, contribuyen significativamente a una variedad de funciones, incluida la regulación del equilibrio energético (ingesta, gasto energético, metabolismo de la glucosa,

entre otros). Además, a través de la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), ejercen efectos tróficos en la mucosa intestinal y activan varios receptores (GPR41 y GPR43), estimulando así la liberación de hormonas entero endócrinas por parte de las células L, como el péptido similar al glucagón (GLP-1) o el péptido tirosina-tirosina (PYY). Estos compuestos desempeñan un papel relevante en la regulación de la homeostasis energética al modular aspectos como el metabolismo de la glucosa, la sensibilidad a la insulina, la termogénesis y el apetito. Este proceso se logra a través de efectos endocrinos en órganos periféricos, como el hígado y los tejidos adiposos blanco y marrón, así como mediante vías de señalización neuronal que alcanzan el sistema nervioso central, donde se integran las señales que regulan el equilibrio energético tanto a corto plazo (GLP-1) como a largo plazo (insulina, leptina).

La microbiota intestinal desempeña un papel crucial en el metabolismo y la circulación enterohepática de las sales biliares, contribuyendo a la producción de ácidos biliares secundarios. Estos ácidos biliares interactúan con el receptor TGR5, lo que induce la diferenciación y el aumento de las células L, así como la secreción de GLP-1, ejerciendo un efecto beneficioso en la tolerancia oral a la glucosa. Además, las bacterias comensales participan en la regulación circadiana de los glucocorticoides de forma dependiente del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal. La depleción de la microbiota intestinal interrumpe la expresión de los genes implicados en los ritmos de producción de la hormona corticosterona en el íleon, lo que conlleva importantes alteraciones como la hipersecreción sostenida de dicha hormona a nivel sistémico y, a su vez, un estado de hiperglucemia y resistencia a insulina. Asimismo, las bacterias intervienen directa o indirectamente en la síntesis de compuestos neuroactivos, incluidos distintos neurotransmisores (serotonina, dopamina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico [GABA], etc.), que influyen en las funciones cerebrales, el comportamiento, el metabolismo y la inmunidad. La influencia de la microbiota en la síntesis de serotonina es particularmente relevante, ya que hasta un 90 % de este neurotransmisor se sintetiza en el intestino y ejerce funciones clave a nivel central y periférico. A nivel del sistema nervioso central, la serotonina es clave en la regulación del estado de ánimo, el apetito y las funciones cognitivas; mientras que a nivel intestinal regula la inflamación y la hipertrigliceridemia<sup>15</sup>.

La influencia del sistema inmunitario en la composición y cantidad relativa de la microbiota intestinal es crucial, ya que puede reforzar la función de la barrera epitelial en los lactantes. Este sistema inmunitario de la mucosa intestinal está compuesto por ganglios linfáticos, lámina propia y células epiteliales, formando así una barrera fisiológica que protege la integridad del intestino. Esta relación simbiótica entre la microbiota y el organismo huésped

resulta en beneficios mutuos, donde el huésped provee un entorno y nutrientes esenciales para el microbioma. A su vez, la microbiota intestinal contribuye al desarrollo del sistema metabólico y a la maduración del sistema inmunitario intestinal mediante la producción de nutrientes beneficiosos, como la síntesis de vitaminas y AGCC. Por lo tanto, esta interacción entre la microbiota y el sistema inmunitario intestinal desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis de la mucosa. Asimismo, la microbiota intestinal participa en la fermentación de los carbohidratos, la síntesis de vitaminas, la reducción de la permeabilidad intestinal y el fortalecimiento del mecanismo de defensa epitelial para establecer una barrera mucosa. El sistema inmunitario de la mucosa intestinal, que representa el componente inmunitario más significativo en los seres humanos, trabaja estrechamente con la microbiota intestinal. El equilibrio del sistema inmunitario en la mucosa intestinal juega un papel crucial en la homeostasis y protección del organismo huésped<sup>53</sup>.

Las bacterias comensales y el sistema inmunológico pueden promoverse y favorecerse mutuamente y mantener el equilibrio microbiológico del intestino. En cambio, los patógenos pueden alterar el microbioma intestinal y estimular el sistema inmunitario para que genere una respuesta inflamatoria. Los desequilibrios en el microbioma intestinal infantil pueden conducir a un desarrollo incompleto del sistema inmunitario de los bebés. Por lo tanto, las anomalías en la composición microbiana del intestino de los recién nacidos a término y en recién nacidos prematuros pueden predisponerlos a un fallo postnatal en la evolución de las defensas innatas clave, lo que conduce a la enfermedad<sup>54</sup>.

Los antígenos dietéticos y los metabolitos microbianos procedentes de la microbiota materna son los actores clave en la preparación de la inmunidad del neonato ante el mundo exterior. El embarazo, el parto y el consumo de leche materna configuran el desarrollo inmunitario en coordinación con la microbiota materna y neonatal. Las discrepancias en estas interacciones de la microbiota durante cada etapa del desarrollo pueden tener efectos a largo plazo en la susceptibilidad a enfermedades, como el síndrome metabólico, el asma infantil o la diabetes autoinmune tipo 1<sup>55</sup>.

En circunstancias normales, la relación entre el sistema inmunitario y el microbioma intestinal fomenta el desarrollo del tracto intestinal y el sistema inmunitario, lo que posibilita que el intestino del lactante tolere de forma eficiente los antígenos provenientes de los alimentos y previene la invasión de la mucosa y submucosa por bacterias patógenas.

Por consiguiente, la configuración del microbioma intestinal durante la infancia temprana ejerce una influencia fundamental en el desarrollo del sistema inmunológico, su capacidad para enfrentar infecciones, así como en la salud durante la etapa adulta.

El análisis cuantitativo del sistema inmunitario, tanto el innato como el adaptativo, carece aún de técnicas completamente desarrolladas. Asimismo, los biomarcadores relevantes para el microbioma intestinal infantil, incluyendo aquellos relacionados con la función de barrera asociada a la mucosa, aún no están plenamente establecidos. Los estudios actuales se encuentran en una etapa preclínica y los resultados son altamente variables e incontrolables, lo que representa un desafío para su aplicación clínica<sup>52</sup>.

### Compuestos bioactivos

Dado que los seres humanos carecen de las enzimas que descomponen los HMO (sialidasas, fucosidasas), estos llegan intactos al colon, donde son digeridos por bacterias de la microbiota intestinal, actuando como prebióticos, favoreciendo el crecimiento de una microbiota intestinal favorable<sup>22,30</sup>. Inhiben la expansión de *B. Streptococci*, previniendo infecciones invasivas en recién nacidos. Protegen contra la enterocolitis necrotizante (ECN), *afección gastrointestinal grave y generalizada que destruye la barrera intestinal y afecta sobre todo a prematuros al aumentar el nivel de mucina intestinal*, reduciendo la adhesión bacteriana al epitelio intestinal y el riesgo de desarrollar ECN.

Asimismo, los HMO afectan positivamente la expansión de los comensales intestinales, proporcionando resistencia a la colonización y contribuyendo a la homeostasia de la mucosa. Promueven el crecimiento de bacterias saludables, incluidos los géneros *Bifidobacteria* y *Bacteroides*, e inhiben las infecciones por bacterias y virus uniéndose al patógeno en la luz o inhibiendo la unión a los receptores de glucano de la superficie celular. También contribuyen a la función de barrera epitelial al apoyar el crecimiento de *B. infantis* en el intestino del bebé. Algunos también se absorben en el torrente sanguíneo, donde ejercen efectos sistémicos mediante la unión de monocitos, linfocitos y neutrófilos a las células endoteliales y formación de complejos plaquetas-neutrófilos<sup>55,56</sup>.

Además, sirven como receptor señuelo para patógenos oportunistas en la superficie de la mucosa, bloqueando la unión de patógenos parásitos virales, bacterianos o protozoarios a los receptores de la superficie de las células epiteliales, ayudando a prevenir enfermedades infecciosas. Los HMO pueden funcionar como un receptor señuelo para los *estreptococos* del grupo B. También son antimicrobianos que actúan como agentes bacteriostáticos o bactericidas y mejoran las respuestas de las células inmunes y epiteliales del huésped en el recién nacido. Varios estudios in vitro han demostrado que promueven el crecimiento de ciertas, pero no de todas, *Bifidobacterium*. *Bifidobacterium longum* subsp. *Bifidobacterium infantis* exhibe un buen crecimiento en un medio suplementado con HMO, incluido 2'-FL, como única fuente de carbohidratos. Con el tiempo, *B. infantis* consume todos los HMO,

incluidos sus metabolitos monosacáridos y disacáridos. Además, *B. infantis* produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que favorecen el crecimiento de bacterias comensales y no de bacterias patógenas.

*Weichert et al* demostró que 2'FL, y en menor medida 3FL, reducen la adhesión de *Campylobacter*, *EPEC*, *Salmonella* y *Pseudomonas*, aunque los efectos inhibidores fueron muy pequeños. Se demostró que los oligosacáridos sialilados reducen la adhesión de *EPEC*. Además de reducir la adhesión de bacterias enteras, los HMO también pueden competir con la unión de toxinas bacterianas y mitigar su actividad diarreaica.

Los HMO pueden afectar directamente la respuesta de las células intestinales al reducir el crecimiento celular e inducir la diferenciación y la apoptosis. La salud intestinal y la función de barrera se consideran la primera línea de defensa en la inmunidad innata.

*Shang et al* demostró que diferentes HMO pueden unirse a norovirus (LNFPII y 2'FL) y virus Norwalk (LNFP I y LNDFHI), lo que indica que varios glicanos potenciales de unión a los virus Noro y Norwalk están presentes en los HMO pudiendo desempeñar un papel en la infección viral<sup>57</sup>.

Pueden alterar la expresión genética en las células intestinales que pueden bloquear la infección de *Listeria monocytogenes*. Los HMO modulan directamente la expresión genética de las células intestinales, lo que provoca cambios en la expresión de los glicanos de la superficie celular y otras respuestas celulares. Modulan la producción de citoquinas de los linfocitos y permiten una respuesta TH1/TH2 más equilibrada. Un número cada vez mayor de estudios in vitro sugiere que los HMO ejercen efectos independientes de la microbiota al modular directamente la respuesta inmune y al regular la población de células inmunes y la secreción de citocinas. Pueden actuar localmente sobre el tejido linfoide asociado a la mucosa o actuar a nivel sistémico. La concentración plasmática de citocinas inflamatorias en los lactantes amamantados y en los lactantes alimentados con fórmula experimental suplementada con 2'-FL fue notablemente menor que la de los lactantes alimentados con fórmula de control suplementada con galactooligosacáridos.

Los HMO, especialmente el 2'-FL, inhiben directamente la inflamación mediada por lipopolisacáridos durante la invasión enterotoxigénica de *Escherichia coli* de las células epiteliales intestinales T84 y H4 mediante la atenuación de la inducción de CD14. La expresión de CD14 media la estimulación del receptor 4 tipo Toll de lipopolisacáridos de una parte de la vía inflamatoria de los factores inhibidores de la migración de macrófagos mediante la supresión de la señalización de citoquinas 2/transductor de señal y la activación

del factor de transcripción  $\kappa$ B. La inhibición directa de la inflamación respalda el papel de los HMO como estimuladores del sistema inmunológico innato.

La inflamación es un proceso necesario y protector del sistema inmunológico innato, requerido para respuestas fisiológicas, como iniciar la reparación de tejidos y eliminar agresiones patógenas, sin embargo, en las primeras etapas de la vida puede provocar resultados adversos en el desarrollo neurológico, lo que subraya la importancia de mitigar la inflamación durante el período neonatal. En este sentido, el intestino del lactante prematuro tiene una estructura y una función inmune más inmaduras en comparación con los lactantes nacidos a término y se caracteriza por provocar una respuesta inflamatoria exagerada hacia posibles agresiones. Por ejemplo, el intestino prematuro exhibe una alta expresión del receptor tipo Toll 4 (TLR4), un receptor inmunológico expresado en las membranas de los leucocitos que reconoce patrones moleculares en patógenos potenciales y, a su vez, regula positivamente y suprime genes que orquestan una respuesta inflamatoria. Esta respuesta inflamatoria exagerada se ha implicado en la patogénesis de la ECN. Se ha demostrado que la LH protege contra la ECN de manera dosis dependiente, aunque el mecanismo no está claro, es probablemente el resultado de los muchos componentes bioactivos que se encuentran en la LH y que se ha demostrado que regulan el sistema inmunológico y atenúan la inflamación, específicamente dentro de la biología intestinal del prematuro. La ECN es un ejemplo extremo de inflamación intestinal, lo que respalda la importancia de los factores bioactivos en la LH<sup>58</sup>.

La estructura molecular de 2'-FL y LNnT producidos industrialmente es idéntica a la de los oligosacáridos presentes en la leche materna humana. A diferencia de los probióticos, los HMO son resistentes a la pasteurización y la liofilización<sup>59</sup>.

Hay pocos estudios infantiles acerca de los efectos de los HMO sobre la infección y la función inmune. En un estudio reciente<sup>60</sup> se observa que la administración de 2'-FL en combinación con LNnT, podría correlacionarse inversamente con episodios de bronquitis, infecciones del tracto respiratorio inferior y uso de antipiréticos o antibióticos informados por los padres a diferentes edades. Cabe destacar que en el estudio no se contempló una cohorte de lactantes amamantados, sino que ambos grupos fueron alimentados con fórmula control o de prueba desde  $\leq 14$  días de edad hasta los 6 meses.

La rica diversidad de HMO tiene el potencial de modular la inmunidad neonatal tanto innata como adaptativa. Los hallazgos de experimentos in vitro y modelos animales muestran que el HMO interactúa directamente con las células epiteliales gastrointestinales, así como con las células inmunes de las mucosas y sistémicas para modular la función inmune. También

dan forma beneficiosa al microbioma del lactante. Su mayor disponibilidad de fuentes comerciales, así como la evidencia acumulada que demuestra que la fórmula suplementada con HMO es segura y puede conferir beneficios a los bebés humanos, ha llevado a la reciente adición de 2'FL solo o en combinación con LNnT a las fórmulas infantiles. Además, debido a sus efectos beneficiosos sobre la función inmune y la defensa del huésped, los HMO también pueden ser beneficiosos para otros segmentos de la población que están inmunodeprimidos o tienen un alto riesgo de infección. Existen estudios limitados en los que animales o humanos han sido alimentados con HMO. Además, pocos estudios han evaluado los efectos de la alimentación con mezclas complejas de HMO sobre la respuesta inmune. Por lo tanto, se necesitan investigaciones futuras para delinear los mecanismos y aprovechar plenamente el potencial de la HMO para beneficiar la función inmune infantil<sup>56</sup>.

Los carbohidratos no digeribles son fermentados por bacterias anaeróbicas en el colon, produciendo energía y AGCC (acetato, propionato y butirato). Las bacterias que producen AGCC incluyen, entre otras, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* y *Ruminococcus*.

Las principales funciones de los AGCC incluyen ser una importante fuente de energía, influir en la expresión genética necesaria para las funciones de defensa y barrera epitelial, regular células inmunes innatas como macrófagos y neutrófilos, y regular bidireccionalmente la inmunidad adaptativa específica de antígeno mediada por células T y B.

El butirato sirve principalmente como fuente de energía para el epitelio del colon. Además, controla la acetilación de histonas, influyendo en la expresión de genes mediante remodelación de la estructura de la cromatina. El acetato y el propionato son transportados al torrente sanguíneo, quedando disponibles para diversos órganos. Los AGCC son reconocidos por receptores en células endocrinas intestinales que modulan la secreción de hormonas involucradas en el control del apetito. Influyen asimismo en la ingesta de alimentos por estimulación de la producción de leptina por parte de los adipocitos. Por otra parte, los AGCC disminuyen el pH en la luz del colon, y facilitan la absorción de iones de Na, limitando el crecimiento de patógenos potenciales<sup>61</sup>.

El propionato activa la gluconeogénesis intestinal a través del circuito neuronal intestino-cerebro. Además, puede aumentar la absorción de ácidos grasos libres, posiblemente al afectar el inhibidor de la lipoproteína lipasa, similar a la angiopoyetina 4 (ANGPTL4)<sup>22</sup>.

Los AGCC regulan positivamente tres procesos metabólicos importantes, como la glucólisis, la fosforilación oxidativa y la lipogénesis en las células B, que son necesarios para producir componentes celulares y energía para apoyar la diferenciación plasmática de las células B.

Se cree que la inhibición de HDAC por los AGCC promueve la acetilación de histonas para mejorar la expresión genética necesaria para la diferenciación de las células B en plasma. Otro mecanismo regulador potencialmente importante de los AGCC está mediado por su impacto sobre el metabolismo celular, debido a que aumentan los niveles de acetil-CoA y ATP, pero disminuyen el nivel de AMP y la actividad de AMPK, lo que lleva a un aumento de la actividad mTOR que sostiene la alta demanda metabólica de las células B en diferenciación. Es necesaria una alta actividad metabólica para apoyar completamente la diferenciación de las células B plasmáticas.

A través de sus efectos sobre muchos tipos de células, los AGCC ejercen efectos reguladores integrales sobre las enfermedades inflamatorias. Si bien, en modelos animales, junto con la administración de fibra dietética, se observó supresión de respuestas inflamatorias asociadas con la diabetes tipo I, a alergias alimentarias, e incluso la lesión renal aguda, la administración crónica de AGCC indujo uretritis en otros, por lo cual, depende de la concentración, el órgano y las condiciones del huésped, podrían causar inflamación.

Los AGCC también mejoran la expresión de moléculas formadoras de barreras epiteliales y la producción de mucina, que están mediadas, en parte, por la inhibición de histona desacetilasa (HDAC) y la activación de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK). También pueden regular directa e indirectamente la diferenciación de las células T en células funcionalmente especializadas. Esto ocurre cuando las células T se someten a preparación antigénica por parte de células presentadoras de antígenos en presencia de AGCC. Inicialmente se informó que C4 suprime la proliferación de células T CD4<sup>+</sup> pero no induce células T FoxP3<sup>+</sup>. Sin embargo, varios grupos informaron que C4 y C3 pueden aumentar las Treg FoxP3<sup>+</sup> del colon *in vivo* y/o *in vitro*, potencialmente a través de su actividad inhibidora de HDAC<sup>62</sup>.

Si bien la bibliografía sugiere que influyen en el crecimiento infantil, sólo 1 estudio evaluó asociación entre los niveles de AGCC y el crecimiento infantil, por lo cual sus funciones y mecanismos de acción no son claros<sup>22</sup>.

La función de los microARN en la leche materna está relacionada con funciones inmunes y metabólicas. *Kosaka et al* observaron altos niveles de expresión de miARN relacionados con el sistema inmunitario, como el miR-155, que participa en la regulación del sistema inmunológico innato y en la maduración de las células B y T durante los primeros seis meses de lactancia. *Zhou y cols* también observaron que los microARN relacionados con el sistema inmunológico eran ricos en exosomas de la leche materna. *Carney y cols* observaron que los objetivos genéticos de los nueve microARN que diferían entre ambos grupos influían en

procesos metabólicos como el metabolismo de los lípidos. Además, los estudios in vitro que utilizan células epiteliales mamarias sugieren un papel de mir-221, previamente identificado en la leche, en la regulación del metabolismo de los lípidos.

El papel de los microARN en los procesos biológicos ha sido bien documentado; sin embargo, con respecto a la leche materna humana, se necesita más trabajo para comprender completamente la función de los microARN y su contribución a este entorno y más aún su papel en el desarrollo infantil<sup>17</sup>.

La lactoferrina, proteína transportadora de hierro, inhibe infecciones de bacterias patógenas, virus, hongos y parásitos, además, sus péptidos promueven algunas especies de *lactobacilos* considerados taxones intestinales beneficiosos para el lactante. Por otra parte, estimula la proliferación de células intestinales y óseas, pudiendo influir en el crecimiento infantil (aunque la evidencia al respecto es escasa)<sup>17,30</sup>. Con respecto a la inflamación, la lactoferrina ayuda a limitar las respuestas inmunes excesivas al bloquear muchas citocinas proinflamatorias, incluidas IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-8, además de suprimir la actividad de los radicales libres. Además, se ha demostrado que la lactoferrina promueve el crecimiento de bacterias probióticas, regulando la homeostasis intestinal.

La lisozima lisa las bacterias gram positivas al degradar su pared exterior, hidrolizando los enlaces beta 1,4 de los residuos del ácido N-acetilmurámico y la N-acetilglucosamina. También se ha informado que tiene cierta actividad antiviral y en combinación con la lactoferrina, lisa también algunas bacterias gram negativas<sup>23</sup>. La lactoferrina se une al lipopolisacárido en la membrana bacteriana externa, eliminándolo y permitiendo que la lisozima acceda y degrade la matriz interna de proteoglicanos de la membrana. Estas proteínas, a través de sus efectos directos sobre los patógenos, ayudan a prevenir la inflamación excesiva en la superficie intestinal<sup>58</sup>.

La LH contiene una variedad de factores de crecimiento especializados, como el factor de crecimiento epidérmico, que ayuda a la curación de la mucosa intestinal, factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) 1 y 2 que aumentan el crecimiento del tejido, y factores de crecimiento neuronal que ayudan a la peristalsis, entre otros. La IgA secretora (SIgA) y la SIgG son las inmunoglobulinas más abundantes en la leche y están presentes en altas concentraciones durante la lactancia temprana. Estos anticuerpos proporcionan una protección inmune muy necesaria al recién nacido. SIgA, el principal anticuerpo protector en la LH, está presente en concentraciones de hasta 12 mg/ml en el calostro mientras que la leche madura contiene sólo ~1 mg/ml, lo que destaca el papel protector del calostro<sup>17, 30</sup>.

slgA constituye la primera línea de defensa inmune específica de antígeno y sus acciones son fundamentalmente locales. Se unen a microorganismos comensales o patógenos, toxinas, virus y otros materiales antigénicos, como lipopolisacáridos, impidiendo la adherencia y la penetración en el epitelio sin desencadenar reacciones inflamatorias que podrían ser perjudiciales durante las primeras etapas de la vida. Este fenómeno se conoce como exclusión inmune. Debido a que la slgA coexiste en la capa mucosa intestinal externa con bacterias comensales, su capacidad para reconocer y eliminar patógenos de manera efectiva y, al mismo tiempo, mantener una relación mutuamente beneficiosa con las bacterias comensales es crucial. El 74 % de las bacterias de la luz intestinal están recubiertas de slgA, por lo cual esta influye en la composición del microbioma intestinal y, además, promueve la homeostasis intestinal al prevenir respuestas inflamatorias inapropiadas a microbios patógenos y antígenos nutricionales.

La inmunoglobulina G (IgG) desempeña un papel antiinflamatorio mediante la unión directa, la opsonización y la aglutinación de patógenos. La IgG se transfiere principalmente a través de la placenta de la madre al feto, pero también se produce en la glándula mamaria y se detecta en la mayoría de las muestras de calostro de las madres.

La LH contiene muchas citocinas, incluido el factor de crecimiento de transformación beta (TGF- $\beta$ ), interleucina 1B (IL-1B), IL-6, I-10, IL-12, TNF- $\alpha$ , interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y granulocitos-macrófagos. Son pequeñas proteínas o péptidos que actúan como mensajeros intercelulares y provocan una respuesta particular después de unirse a un receptor en una célula diana. Las respuestas incluyen la mediación y regulación de la inmunidad, la hematopoyesis y la inflamación. Se ha demostrado que IL-10, TGF- $\beta$ , antagonista del receptor de IL-1 (IL-1RA), receptor del factor de necrosis tumoral I y II (TNFR I y II) tienen funciones antiinflamatorias. IL-10 inhibe específicamente la actividad de las células efectoras T-helper 1 (Th1), las células asesinas naturales y los macrófagos, lo que da como resultado la homeostasis inmune.

El TGF- $\beta$  tiene muchas propiedades inmunomoduladoras, incluida la estimulación de la maduración y la defensa intestinal al cambiar las clases de inmunoglobulinas de IgM a IgA en los linfocitos B, la producción de inmunoglobulinas en la glándula mamaria y el tracto gastrointestinal del recién nacido, ayuda con la reparación de la mucosa intestinal e inducción de la tolerancia oral. Se sabe que regula la inflamación al disminuir la expresión de citoquinas proinflamatorias. El TGF- $\beta$  inhibe la diferenciación de las células T vírgenes en subtipos Th1 y Th2, que promueven respuestas inmunitarias mediadas por células mediante la secreción de citoquinas proinflamatorias y promueven respuestas IgE y eosinófilas, respectivamente. El TGF- $\beta$  también ayuda a estabilizar la expresión de la caja P3 del

forkhead (FOXP3) y mantiene la diferenciación de las células T reguladoras que inhiben las respuestas inmunes y moderan la inflamación. Además de las funciones inmunorreguladoras esenciales en el recién nacido, los estudios han sugerido la asociación entre el TGF- $\beta$  de la LH y las enfermedades alérgicas en la infancia y la niñez, como asma, eccema, alergia alimentaria y rinitis alérgica. Sin embargo, una revisión sistémica reciente realizada por *Khaleva et al* sugirió que los estudios eran demasiado heterogéneos para deducir una asociación clara y que se necesitan estudios prospectivos más amplios.

Otras citoquinas actúan como antagonistas directos de la señalización proinflamatoria. El antagonista del receptor de IL-1 (IL-1RA) también está presente en la leche humana y limita la inflamación al competir con la citocina proinflamatoria, IL-1, por la unión al receptor.

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) es un péptido abundante en la leche materna y es importante para preservar la función de la barrera intestinal, mejorar el transporte de nutrientes y aumentar la actividad de las enzimas intestinales. Tiene efectos antiinflamatorios indirectos mediante la regulación positiva de la IL-10. De manera similar, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) tiene como función mediar en la formación de nuevos vasos sanguíneos, un proceso llamado angiogénesis, pero se ha sugerido que el VEGF también puede tener efectos antiinflamatorios<sup>58</sup>.

Las funciones de las hormonas en la LH, incluidas la hormona paratiroidea, la insulina, la leptina, la grelina, la apelina, la nesfatina-1, la obestatina y la adiponectina, y sus efectos en los bebés aún no se conocen bien<sup>21</sup>.

La LM se asocia inversamente con el riesgo de obesidad temprana en niños de dos a seis años. Además, existe un efecto dosis-respuesta entre la duración de la LM y la reducción del riesgo de obesidad infantil temprana. La LM puede ayudar al bebé a establecer el control de la ingesta de alimentos, mientras que la alimentación con fórmula puede enseñarle a descuidar las señales de saciedad. Por otra parte, las investigaciones demostraron que los lactantes amamantados tienen más probabilidades de retrasar la introducción de alimentos sólidos, lo que reduce las probabilidades de obesidad infantil. Además, la LH contiene menor cantidad de proteína que la fórmula. *Weber y cols* redujeron la proteína contenida en la fórmula infantil a niveles similares a los encontrados en la LH, solo para descubrir que el IMC a los seis años de los lactantes amamantados se parecía al de los lactantes con fórmula (*Weber et al*, 2014). Además, el sabor de la dieta materna entregado a través de la LH puede influir en el sabor y la aceptabilidad de los alimentos posteriores de los bebés, por lo cual los amamantados tienen menos probabilidades de desarrollar una conducta selectiva a la hora de comer, consumiendo una dieta bastante más saludable que no contribuye a la obesidad<sup>63</sup>.

Título	Autores	País	Año	Tipo	Principales hallazgos
<i>Gut Microbiome and Breast-feeding: Implications for Early Immune Regulation</i>	Erin C. Davis; Vanessa P. Castagna; David A. Sela; Margaret A. Hillard; Samantha Lindberg; Nicholas J. Mantis; Antti E. Seppo; Kirsi M. Järvinen	Estados Unidos	2022	Review	La lactancia materna protege contra las enfermedades diarreicas y las infecciones respiratorias y se asocia con un menor riesgo de enfermedades inflamatorias no transmisibles.
<i>Microbiota perinatal: Revisión de su importancia en la salud del recién nacido</i>	José Uberos	España	2020	Review	El tipo de parto, la administración de antibióticos perinatales, el entorno y la exposición nutricional, en especial, la lactancia materna, han demostrado relacionarse de forma importante con el microbioma intestinal predominante.
<i>Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome</i>	Pia S. Pannaraj; Fan Li; Chiara Cerini; Jeffrey M. Bender; Shang-xin Yang; Adrienne Rollie; Hely Adisetyo; Sara Zabih; Pamela J. Lincez; Kyle Bitteringer; Aubrey Bailey; Frederic D. Bushman; John W. Sleasman; Grace M. Aldrovandi	Estados Unidos	2017	Estudio prospectivo longitudinal (n=107 parejas sanas de madre e hijo)	Las alteraciones en el microbioma se asocian con una mayor susceptibilidad a enfermedades autoinmunes, como la diabetes y la enfermedad inflamatoria intestinal. La colonización del intestino del lactante es un proceso complejo que depende de múltiples factores interrelacionados.
<i>Microbiota intestinal y salud</i>	Julia Álvarez; José Manuel Fernández Real; Francisco Guarner; Miguel Gueimond; Juan Miguel Rodríguez; Miguel Saenz de Pipaon; Yolanda Sanz	España	2021	Review	La microbiota intestinal es clave para el desarrollo del sistema inmunitario y la homeostasis del individuo, y las primeras fases de colonización son cruciales. La adquisición de la microbiota está influida por numerosos factores: tipo de parto, edad gestacional, alimentación inicial, exposición a antibióticos, entre otros.
<i>The Complex Link and Disease Between the Gut Microbiome and the Immune System in Infants</i>	Huan Zhang; Zhilin Zhang; Yiqun Liao; Wenjie Zhang; Dong Tang	China	2022	Review	Los microorganismos comensales y sus productos pueden interactuar con las células inmunitarias para establecer y mantener la tolerancia del huésped, al tiempo que influyen en las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas en los primeros años de vida.

<i>Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system</i>	Na Shi; Na Li; Xinwang Duan; Haitao Niu	China	2017	Review	El sistema inmunológico de la mucosa intestinal constituye el componente inmunológico más grande en los seres humanos y funciona en estrecha colaboración con el microbioma intestinal. El equilibrio del sistema inmunológico de la mucosa intestinal juega un papel clave en la homeostasis y la defensa del huésped.
<i>Commensal and probiotic bacteria may prevent NEC by maturing intestinal host defenses</i>	Brett M. Jakaitis; Patricia W. Denning	Estados Unidos	2014	Review	Bacterias comensales y probióticas pueden promover las defensas intestinales del huésped al reducir la señalización apoptótica, bloquear la señalización inflamatoria y la función de barrera de maduración en los epitelios intestinales.
<i>Maternal Microbiota, Early Life Colonization and Breast Milk Drive Immune Development in the Newborn</i>	Cristina Kalbermatter; Nerea Fernandez Trigo; Sandro Christensen; Stephanie C Ganal-Vonarburg	Suiza	2021	Review	Desde la gestación la microbiota materna puede influir eficazmente en la maduración inmunitaria innata del feto en desarrollo, a pesar del carácter innato del sistema inmunitario innato. La maduración de la microbiota intestinal y el sistema inmunitario en evolución van de la mano y se influyen mutuamente durante los primeros años después del nacimiento.
<i>Human Milk Oligosaccharides Influence Neonatal Mucosal and Systemic Immunity</i>	Sharon M Donovan; Sarah S Comstock	Estados Unidos	2016	Review	El papel que desempeñan los oligosacáridos de la leche humana (HMO) en el desarrollo y la función inmune gastrointestinal y sistémica neonatal.
<i>Immunological Effects of Human Milk Oligosaccharides</i>	Triantis, Vassilis; Bode, Lars; van Neerven, R. J. Joost.	Países bajos	2018	Review	Efectos que pueden tener los HMO sobre infecciones, alergias, enfermedades autoinmunes e inflamación, y su papel en la alteración de las respuestas inmunitarias mediante la unión a receptores relacionados con el sistema inmunitario.
<i>The Role of Two Human Milk Oligosaccharides, 2'-Fucosyllactose and Lacto-N-Neotetraose, in Infant Nutrition</i>	Badriul Hegar; Yulianti Wibowo; Ray Wagiu Basrowi; Reza Gunadi Ranuh; Subianto Marto Sudarmo; Zakiudin Munasir; Alpha Fardah Atthiyah;	Indonesia	2019	Review	La cantidad y diversidad de HMO están determinadas por los antecedentes genéticos de las madres (secretoras o no secretoras de HMO). Las madres no secretoras secretan menos HMO que las madres secretoras. Los

	Ariani Dewi Widodo; Supriatmo; Muzal Kadim; Ahmad Suryawan; Ninung Rose Diana; Christy Manoppo; Yvan Vandenplas				bebés amamantados de madres secretoras obtienen más beneficios para la salud que los de madres no secretoras.
<i>Effects of Infant Formula With Human Milk Oligosaccharides on Growth and Morbidity: A Randomized Multicenter Trial</i>	Giuseppe Puccio; Philippe Alliet; Cinzia Cajozzo; Elke Janssens; Giovanni Corsello; Norbert Sprenger; Susan Wernimont; Delphine Egli; Laura Gosoni; Philippe Steenhout	Italia	2017	Ensayo multicéntrico, aleatorizado y doble ciego (n= 175)	La fórmula infantil con 2'FL y LNnT es segura, bien tolerada y favorece el crecimiento apropiado para la edad. Asociación entre el consumo de fórmula suplementada con HMO y menor morbilidad (particularmente bronquitis) y uso de medicamentos (antipiréticos y antibióticos)
<i>Building a Beneficial Microbiome from Birth</i>	Esther Castanys-Muñoz; Maria J Martin; Enrique Vazquez	España	2018	Review	Estructura y función de la microbiota intestinal durante las primeras etapas de la vida y factores que determinan su composición. Efectos de los HMO y otras fibras prebióticas en la microbiota neonatal.
<i>Immune regulation by microbiome metabolites</i>	Chang H. Kim	Estados Unidos	2018	Review	Los metabolitos microbianos funcionan bidireccionalmente para promover tanto la tolerancia como la inmunidad para combatir eficazmente las infecciones sin desarrollar enfermedades inflamatorias.
<i>Bioactive Factors in Human Breast Milk Attenuate Intestinal Inflammation during Early Life</i>	Julie D. Thai; Katherine E. Gregory	Estados Unidos	2020	Review	Para los bebés alimentados con leche materna, una regulación inflamatoria adicional, además de proteger en el período prematuro, también, probable-mente tenga implicaciones en la disminución del riesgo de contraer enfermedades inflamatorias crónicas a largo plazo.
<i>A Meta-Analysis of the Association Between Breastfeeding and Early Childhood Obesity</i>	Jia Qiao; Li-Jing Dai; Qing Zhang; Yan-Qiong Ouyang	China	2020	Metaanálisis	La lactancia materna se asocia inversamente con el riesgo de obesidad temprana en niños de dos a seis años. Además, existe un efecto dosis-respuesta entre la duración de la lactancia materna y la reducción del riesgo de obesidad infantil temprana.

**Objetivo 3:** Definir la modificación de la microbiota intestinal del lactante al ser alimentado con fórmula láctea y/o con leche de vaca.

#### Microbiota intestinal en los primeros 1000 días

Durante los primeros 1000 días, que comprenden desde la concepción hasta los dos años de vida, se establece un período crucial, una ventana crítica de oportunidades para desarrollar una microbiota intestinal saludable, la programación y maduración inmunológica, con el potencial de influir significativamente en la prevención de enfermedades crónicas.

La nutrición óptima del lactante durante este período, caracterizado por un rápido crecimiento y desarrollo del organismo, así como por la maduración de sus funciones fisiológicas, es clave para la salud a lo largo de la vida.

Entender y optimizar esta alimentación puede contribuir a la promoción de una microbiota saludable y, por ende, a la reducción del riesgo de desarrollar diversas enfermedades crónicas en el futuro.

#### Recomendaciones nutricionales: lactancia materna, leche de vaca y fórmulas infantiles

El inicio temprano de la lactancia, idealmente dentro de la primera hora de vida (conocida como la *hora sagrada*), es determinante para su continuidad y la reducción del riesgo de mortalidad. Cuando la lactancia no es posible, se sugiere utilizar LH de bancos de leche. Si tampoco es posible, los sucedáneos de la LH deben ser utilizados bajo prescripción médica. Hasta el momento, no ha sido desarrollada ninguna fórmula que iguale la composición de la LH y que promueva una microbiota intestinal similar.

La OMS, UNICEF y el Ministerio de Salud de la Nación Argentina recomiendan no ofrecer a los niños menores de un año leche sin modificar. Los lactantes alimentados con este tipo de leche presentan una baja ingesta de hierro, ácido linoleico y vitamina E, y una ingesta excesiva de sodio, potasio y proteínas (Ministerio de Salud, Argentina, 2021). Las fórmulas deben regirse por los estándares del Codex Alimentarius (UNICEF, 2003).

Ante la imposibilidad de la lactancia, las fórmulas deben ser adaptadas a la edad y condición del niño, y algunas pueden estar suplementadas con probióticos, prebióticos, simbióticos y/o postbióticos. La leche de vaca (LV) no es recomendada en el primer año de vida debido a su contenido excesivo y déficit de ciertos nutrientes. Solo en situaciones de emergencia (desastres naturales), podría utilizarse LV para niños menores de seis meses, siempre que esté pasteurizada, diluida 1/2 o en polvo reconstituida al 6 %, con 5 % de azúcar y 2 % de aceite (puro de girasol, maíz, soja).

La Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica Hepatología y Nutrición (ESPGHAN) tampoco recomienda el uso de leches de otros mamíferos (oveja, búfala, yegua o cabra) ni de bebidas vegetales (soja, almendras, avena, arroz, u otras) debido a su inadecuada composición<sup>64</sup>.

La decisión de amamantar es muy personal y a menudo está influenciada por muchos factores. A nivel mundial, solo el 38 % de los bebés son amamantados exclusivamente. La fórmula infantil está destinada a ser un sustituto eficaz de la LH. Aunque la producción de un producto idéntico a esta última no es factible, se ha hecho todo lo posible para imitar su perfil nutricional para el crecimiento y el desarrollo normal del lactante. La LV o la bebida de soja se utilizan más comúnmente como base, con ingredientes suplementarios añadidos para aproximar mejor la composición de la LH y para lograr beneficios para la salud, incluidos el hierro, los nucleótidos y las composiciones de mezclas de grasas. Se añaden los ácidos grasos del ácido araquidónico y el ácido docosahexenoico (DHA). Los probióticos y compuestos, producidos por ingeniería genética, se añaden o se están considerando actualmente para su adición a la fórmula.

La regla recientemente actualizada de la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) sobre las buenas prácticas de fabricación actuales para la fórmula infantil, 21 CFR 106.96<sup>65</sup>, requiere, entre otras cosas, que las fórmulas satisfagan los factores de calidad del crecimiento físico normal y una calidad biológica suficiente del componente proteico (cantidades adecuadas de proteína en una forma que puede ser utilizada por los lactantes). La fórmula infantil es solo para la salud de lactantes sin problemas médicos o dietéticos inusuales. El proceso de fabricación está altamente regulado y supervisado para cumplir con los criterios de calidad nacionales e internacionales.

La leche bovina es la base de la mayoría de los preparados para lactantes. Sin embargo, contiene niveles más altos de grasa, minerales y proteínas en comparación con la LH. Por lo tanto, debe desnatarse y diluirse para que se parezca más a la composición de la LH. La fórmula infantil a base de LV contiene aceites vegetales añadidos, vitaminas, minerales y hierro para el consumo de la mayoría de los lactantes sanos nacidos a término.

El organismo del lactante no es capaz de manejar los altos niveles de proteína, sodio y potasio de la LV no modificada. Las fórmulas con un contenido de proteínas de 2 a 2,5 g/100 ml y una relación proteína/energía <3 g/100 kcal se utilizan para lactantes normales, mientras que con un mayor contenido de proteínas (2,9 g/100 ml) y una mayor relación proteína/energía (3,5 g/100 kcal) son para un peso al nacer muy bajo o prematuros<sup>66</sup>.

## Programación nutricional

Desde hace años se conocen las consecuencias que a largo plazo conllevan determinados acontecimientos que suceden en etapas tempranas de la vida, incluso en el periodo embrionario-fetal. Dichos acontecimientos pueden actuar de tres formas diferentes: ocasionando un daño directo, induciendo o limitando el desarrollo de una estructura somática o alterando una función fisiológica. La nutrición durante las etapas tempranas es capaz de modular el crecimiento y el desarrollo funcional del organismo y puede ejercer efectos de programación metabólica precoz que perduren a lo largo de la vida.

En el tracto gastrointestinal, la microbiota está formada por una comunidad bacteriana compleja, dinámica y en equilibrio que juega un papel fundamental en la salud, interviniendo en importantes funciones fisiológicas, metabólicas e inmunológicas del hospedador. A las alteraciones en el equilibrio, la composición y/o la función de la microbiota se las denomina «disbiosis», y esta conlleva un aumento de patógenos y disminución de la diversidad microbiana. Como respuesta a esto, se produce inflamación de bajo grado que puede cronificarse, asociándose a un mayor riesgo de desarrollar ciertas ENT como, por ejemplo, alergias, problemas inflamatorios intestinales, diabetes mellitus tipo 1, obesidad y también trastornos neurológicos y cognitivos.

La microbiota materna resulta ser el primer inóculo del feto y, tras el nacimiento, esta va aumentando gradualmente en diversidad filogenética para, al final de los tres años de vida, converger hacia una composición semejante a la del adulto.

Una vez establecida la microbiota intestinal inicial, la comunidad microbiana continúa su evolución a lo largo del periodo de lactancia y durante la introducción de la alimentación complementaria. Posteriormente, su composición sigue evolucionando al mismo tiempo que el hospedador y aumenta gradualmente en diversidad filogenética para finalmente converger hacia una microbiota que se podría denominar adulta<sup>67</sup>.

Un inadecuado desarrollo de la microbiota intestinal durante los primeros meses de vida por el aumento del número de cesáreas, el abandono prematuro de la LM o, ya en la edad adulta, por el abuso de antibióticos, una dieta inadecuada o el proceso del envejecimiento, pueden llevar a un estado de disbiosis con una alteración de la microbiota tanto cualitativa (predominio de especies distintas a las habituales) como cuantitativa (menor concentración de bacterias beneficiosas). La consecuencia será la disminución de sus efectos saludables y la aparición de enfermedades.

Está generalmente aceptado que un recién nacido a término por vía vaginal y alimentado con LM desarrolla una microbiota más competente y protectora frente a la aparición de

algunas enfermedades. Así, los lactantes alimentados con LH tienen una menor incidencia de infecciones, de alergias y de problemas digestivos, un mejor desarrollo neurológico y una menor posibilidad de presentar enfermedad inflamatoria intestinal o diabetes en un futuro<sup>68</sup>.

### Factores que influyen en el establecimiento de la microbiota gastrointestinal en recién nacidos

Existen diferencias significativas en la diversidad y abundancia bacteriana del intestino de los lactantes debido a las distintas dietas infantiles a múltiples edades. Los lactantes alimentados con LH tienen la diversidad de microbiota más baja, aunque más estable en el tiempo en comparación con los alimentados con fórmulas. Los lactantes alimentados con fórmulas a base de soja tienen una mayor diversidad bacteriana y un número mayor de vías metabólicas alteradas que los alimentados con LH y fórmulas a base de leche de vaca, lo que sugiere que los componentes de la dieta de los recién nacidos promueven de manera única el crecimiento y desarrollo de la microbiota<sup>65,69,70,71</sup>.

El consumo de LH o fórmula en recién nacidos genera cambios en el microambiente intestinal, que a su vez conduce a cambios en la composición y diversidad de la microbiota del recién nacido. Este último es colonizado en su intestino por *Proteobacterias* y *Firmicutes*, seguido por la colonización de *Actinobacteria*, *Lactobacillo*, *Bifidobacteria* y *Streptococo* al entrar en contacto con la LH.

En contraposición a los recién nacidos alimentados con LH, los alimentados por fórmula presentan una colonización bacteriana caracterizada por la predominancia de *Enterococci* y *Enterobacteria*<sup>72</sup>.

La LM proporciona una mezcla de nutrientes y agentes promicrobianos y antimicrobianos, lo que favorece el desarrollo de la llamada "microbiota orientada a la leche". Los factores de riesgo más conocidos para el desarrollo diferencial de la microbiota infantil son el parto por cesárea, el uso de antibióticos prenatales y perinatales y la alimentación con leche de fórmula. La alteración del desarrollo natural de la microbiota infantil puede aumentar el riesgo de enfermedades gástricas, metabólicas e inmunitarias del recién nacido<sup>73</sup>.

La microbiota intestinal de los lactantes amamantados presenta una menor diversidad que la de sus homólogos alimentados con biberón. Mientras que se considera que una mayor diversidad bacteriana es beneficiosa para los adultos, se cree que una menor diversidad mostrada por los lactantes amamantados es beneficiosa para el intestino y el sistema inmunológico en desarrollo<sup>69</sup>. Los análisis transcriptómicos de las células epiteliales intestinales han demostrado que el tipo de alimentación infantil también afecta la expresión génica del huésped, ya que la LM mejora la transcripción de genes que están asociados con

actividades inmunológicas y metabólicas. Los bebés alimentados con fórmula están expuestos a diferentes carbohidratos, bacterias y micronutrientes, lo que provoca diferentes patrones de colonización microbiana del intestino. En este contexto, varias publicaciones han informado que las heces de los lactantes amamantados contienen niveles más altos de *bifidobacterias* y *lactobacilos* y niveles más bajos de patógenos potenciales que los de sus homólogos alimentados con fórmula, y estos últimos se asocian a una microbiota intestinal más diversa en la que predominan los *Estafilococos*, los *Bacteroides*, los *Clostridios*, los *Enterococos*, las *Enterobacterias* y el género *Atopobium*.

Como consecuencia de estas diferencias en la microbiota, los niveles de AGCC también son diferentes en las heces de los lactantes amamantados frente a los alimentados con fórmula, estando presentes en niveles más altos el propionato y el butirato en este último grupo. Además, parece que los lactantes alimentados con leche de fórmula logran una divergencia temprana hacia una composición de microbiota similar a la de los adultos.

Los HMO en la LH humana hacen que la microbiota sea baja en diversidad y riqueza y alta en *bifidobacterias*. En este contexto, en comparación con la de un lactante (de la misma edad), la microbiota de un lactante alimentado con leche de fórmula suele ser más diversa y rica, pero con una menor abundancia de *bifidobacterias*. Durante y después del destete, los cambios que se producen en la diversidad microbiana son más pronunciados en los lactantes alimentados con LH que en los alimentados con leche de fórmula. Esto se debe a una rápida disminución de las *bifidobacterias*, siendo reemplazadas en relativa abundancia por *Bacteroides* spp. y miembros de las familias *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*<sup>70,73,74</sup>.

### Bióticos en fórmulas infantiles

Si bien la composición microbiológica y fisicoquímica, y el dinamismo en la sucesión de nutrientes y microorganismos de la LH es imposible de reproducir en una fórmula, en los últimos 30 años se avanzó en el desarrollo de compuestos bioactivos (bióticos) capaces de otorgar algunas de las funcionalidades de la LH. Los bióticos consisten en probióticos, prebióticos, simbióticos y postbióticos. Los probióticos son microorganismos vivos capaces de conferir un efecto benéfico cuando se administran en cantidades adecuadas. Los prebióticos son ingredientes selectivamente fermentados por la microbiota del huésped. La combinación de probióticos y prebióticos se denomina simbióticos, mientras que los postbióticos son preparaciones de microorganismos inanimados y/o sus componentes celulares que confieren un efecto benéfico en la salud. También se han logrado sintetizar, o producir por fermentación microbiana, algunos de los HMO de la LH para ser adicionados a algunas fórmulas.

Al comparar la microbiota de lactantes alimentados con fórmulas, se observa un patrón de colonización diferente, dominado por las *bifidobacterias* y con menor cantidad de *clostridios* que en niños que toman LH. Los alimentados con fórmulas tienen una composición microbiana más heterogénea, con menores niveles de *bifidobacterias*.

Las diferencias en la microbiota intestinal de niños que reciben LH o fórmulas se asocian a una mayor predisposición a desarrollar dermatitis atópica en los bebés alimentados con fórmulas.

La LH es un tejido biológico dinámico adaptado a las necesidades cambiantes del bebé. Es el estándar de oro, no obstante, algunos niños requieren, al menos en parte, de fórmulas infantiles. La LV y las fórmulas a base de vegetales se desaconsejan en el primer año de vida. Se espera que la complejidad de las fórmulas siga aumentando a medida que se conozca mejor cómo modular la microbiota intestinal mediante probióticos, prebióticos, simbióticos y postbióticos<sup>64</sup>.

#### Prebióticos en fórmulas lácteas y leche de vaca

La alta concentración y diversidad estructural de los HMO son exclusivas de los humanos. Sin la suplementación con probióticos y prebióticos, la microbiota intestinal de los lactantes alimentados con fórmula generalmente no estaría dominada por las especies de *Bifidobacterium*. La adición de probióticos a la fórmula representa una estrategia clave para reducir la incidencia y la gravedad de la diarrea en los lactantes.

La mayoría de las cepas probióticas añadidas a la fórmula se han aislado de alimentos o de la microbiota fecal infantil. Aunque el uso de probióticos ahora se está extendiendo de la investigación a las recomendaciones, todavía se requiere un esfuerzo científico riguroso para validar cepas específicas con potencial antialérgico para aplicaciones preventivas y terapéuticas<sup>75</sup>.

El conocimiento de que las *bifidobacterias* son los principales microorganismos que se benefician de los HMO prebióticos en la LH ha llevado a que los oligosacáridos no digeribles se añadan a la fórmula infantil. Se han mostrado resultados similares a los de la LM en la reducción del pH colónico y el aumento de la producción de AGCC y lactato. También se demostró que los prebióticos son eficaces para aumentar selectivamente la abundancia de *bifidobacterias* y *lactobacilos* tanto en mujeres embarazadas como en lactantes alimentados con fórmula. El consumo de fórmulas infantiles que contienen prebióticos favorece el desarrollo de una microbiota intestinal neonatal similar a la de los lactantes amamantados. Los principales prebióticos que se utilizan en la fórmula infantil son galactooligosacáridos (GOS), fructooligosacáridos (FOS) y polidextrosa (PDX). Tanto para el GOS como para los

fructanos tipo inulina, existe un fuerte respaldo clínico de que son beneficiosos para la salud digestiva e inmunológica<sup>73</sup>.

Se cree que los lactantes alimentados con fórmulas suplementadas con prebióticos en comparación con las no suplementadas, si bien tuvieron una tasa de crecimiento tanto en talla como en peso similares, los que consumieron la fórmula suplementada tuvieron indicios de una mejor comodidad gastrointestinal, menos cólicos, tasas más bajas de morbilidad para infecciones del tracto respiratorio inferior, así como el uso de antipiréticos y antibióticos en los primeros 4 meses de edad. Los HMO pueden desempeñar un papel inmunomodulador sistemático a través de la mediación directa de las interacciones célula-célula en el sistema inmunológico. La evidencia acumulada que muestra efectos inmunomoduladores locales y sistémicos de los HMO proporciona apoyo mecanicista para un efecto sobre las morbilidades relacionadas con las vías respiratorias.

En los recién nacidos con muy bajo peso al nacer la suplementación con prebióticos compuestos de oligosacáridos neutros es eficaz en la reducción de incidencia de enterocolitis necrotizante. La evidencia indica que, dados los efectos positivos de los oligosacáridos en la flora intestinal, la suplementación con prebióticos puede conferir protección contra la sepsis neonatal<sup>76</sup>.

Los beneficios de los HMO en fórmulas suplementadas persisten hasta los 12 meses según la evidencia, lo que sugiere que el potencial de inmunomodulación puede ser duradero y programar el sistema inmunológico reduciendo el riesgo posterior de infecciones del tracto respiratorio<sup>60</sup>.

El uso de prebióticos en la fórmula infantil ya es una práctica común en los sistemas de alimentación infantil. No hay claridad sobre las diferencias funcionales entre los efectos de los diferentes tipos de prebióticos, la combinación de diferentes prebióticos o incluso los simbióticos. Por lo general, el efecto de los prebióticos se mide como un aumento de *bifidobacterias* en el intestino infantil. Sin embargo, aún se carece de información sobre el tipo de *bifidobacterias* estimuladas y los efectos directos sobre la estimulación inmunitaria. Se espera que las investigaciones futuras proporcionen más información sobre los mecanismos de los pro/prebióticos y su uso posterior en los lactantes<sup>73</sup>.

### Oligosacáridos

Se han estudiado los oligosacáridos en la leche de muchos otros mamíferos, pero ningún otro animal iguala la gran cantidad y la alta diversidad estructural de los HMO de la LH. Las concentraciones de oligosacáridos en la leche de la mayoría de los animales de granja, incluidas las vacas, las cabras, las ovejas y los cerdos, son de 100 a 1000 veces más bajas

que en la LH, con un menor número de oligosacáridos diferentes y una mayor abundancia de oligosacáridos sialilados y una menor abundancia de oligosacáridos fucosilados.

La leche de cada especie tiene una composición físico-química diferente, acorde a las necesidades de sus crías. Las bebidas artesanales no están indicadas en niños menores de dos años de edad, debido a que pueden provocar efectos colaterales como desnutrición, raquitismo, alcalosis metabólica, entre otras<sup>77</sup>.

La leche de animales domésticos contiene una gran variedad de oligosacáridos complejos. Los oligosacáridos sialilados representan aproximadamente el 80 %-90 % del grupo total de leche de todos los animales domésticos. La leche de las vacas que pastan contiene concentraciones más altas de ácido siálico en comparación con las vacas que no pastan. La LV podría ser una fuente útil de una variedad de oligosacáridos sialilados para su uso como aditivos en la fórmula infantil. Ahora también es posible complementar la fórmula infantil comercial con oligosacáridos sintetizados que son químicamente idénticos a los HMO.

Una microbiota "madura" contiene ciertos taxones que son biomarcadores para el grupo de edad particular del niño/lactante, mientras que una microbiota "inmadura" o retrasada se asemeja a la de un niño/lactante más pequeño. El retraso en la maduración de la microbiota se asocia a alteraciones fisiológicas en el huésped.

### Ácidos grasos

La porción lipídica de la LH es la principal fuente de energía para los niños en crecimiento y proporciona aproximadamente del 45 % al 55 % de la energía total. Las composiciones lipídicas de las leches de mamíferos (vaca, búfalo, burro, oveja y camello) se compararon con las de la LH en los perfiles de ácidos grasos y triacilglicerol (TAG), fosfolípidos, así como en los perfiles de fusión y cristalización. Los resultados mostraron que estas grasas de la leche, especialmente la grasa de la leche de oveja, tenían altos grados de similitud con la grasa de la LH en la composición total de ácidos grasos. Sin embargo, otros aspectos químicos tenían menos similitud. Este resultado indica que estas grasas de leche no cumplen con los requisitos de los sustitutos de la grasa de la LH, pero grandes cantidades de estas grasas de leche de mamíferos comercializadas son buenas materias primas para la producción de fórmula infantil. Las membranas de los glóbulos de grasa de la leche son una fracción que se ha excluido previamente de las fórmulas para lactantes, pero sus componentes son activos y previenen la infección. La suplementación de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche de la fórmula infantil también reduce la brecha en el desarrollo cognitivo entre los bebés alimentados con LH y con fórmula<sup>66</sup>.

El acetato es el AGCC más abundantemente producido en el colon de los adultos, y su producción es una característica común de la mayoría de los miembros de la microbiota intestinal. En comparación con los de los adultos, los niveles de AGCC fecales en los lactantes amamantados se caracterizan por proporciones relativas más altas de acetato, proporciones más bajas de propionato y una ausencia casi total de butirato. El acetato y el lactato son los precursores de la producción de butirato por parte de ciertos miembros de la microbiota, por lo que estos ácidos orgánicos se convierten rápidamente en el intestino adulto. Los altos niveles de acetato y lactato en los lactantes amamantados reflejan el predominio de *bifidobacterias* y *lactobacilos*. Como tal, los bebés amamantados tienen un pH fecal más bajo (promedio de ~5.8) que los bebés alimentados con fórmula (promedio de ~7.1). Se ha sugerido que la mayor abundancia relativa de ácido láctico en los lactantes amamantados impulsa esta diferencia de pH. Se cree que la baja acidez en el intestino temprano juega un papel beneficioso, ya que es prohibitivo para la colonización de patógenos<sup>73,78</sup>.

### Proteínas bioactivas

Se cree que la menor concentración de proteínas de la LH puede influir positivamente en el crecimiento infantil, posiblemente previniendo la obesidad infantil y los trastornos relacionados con la obesidad en la edad adulta. Actualmente, la investigación se centra en comprender los mecanismos subyacentes de la ingesta temprana de proteínas en la salud posterior y la fórmula infantil más adecuada para mejorar la calidad de las proteínas, junto con un contenido de proteínas reducido para un crecimiento óptimo.

Se han aislado nuevas fracciones lácteas de leche bovina y ahora están disponibles comercialmente. Muchos de estos componentes son proteínas, como la  $\alpha$ -lactalbúmina, la lactoferrina, la osteopontina y las proteínas de membrana de los glóbulos de grasa de la leche. Al añadir proteínas bioactivas a las fórmulas infantiles, es importante reducir el contenido total de proteínas de la fórmula. La composición de aminoácidos de la fórmula también es importante; las concentraciones séricas de aminoácidos esenciales no deben ser más bajas que las de los bebés amamantados<sup>66</sup>.

Varios componentes de la LV, incluida la lactosa y las proteínas, se han identificado como posibles desencadenantes de molestias y trastornos gastrointestinales. Entre las condiciones prevalentes asociadas con la ingesta de leche se encuentran la alergia a la proteína de la leche de vaca y la intolerancia a la lactosa<sup>79</sup>.

### Alergia a la leche de vaca

La alergia a proteína de la leche de vaca (APLV) es la alergia alimentaria más frecuente en la infancia y la primera infancia y puede estar presente con varios fenotipos clínicos. Se caracteriza por ser una reacción inmune adversa a antígenos alimentarios específicos. La leche entera en polvo usada en lactantes menores está contraindicada, ya que tiene efectos colaterales debido a la alergia a la proteína de leche de vaca con hemorragia gastrointestinal, enfermedades alérgicas y enfermedades cardiovasculares a mayor edad<sup>27</sup>.

La evidencia emergente indica que las alteraciones del microbioma intestinal (disbiosis) en los primeros años de vida causan una desregulación inmune y hacen que el huésped sea susceptible a enfermedades mediadas por el sistema inmunitario más adelante en la vida. Por lo tanto, la colonización del intestino por microorganismos "saludables" que se produce en los primeros años de vida, determina la salud del huésped de por vida.

Las proteínas de la leche de vaca se dividen en dos clases principales, las caseínas ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ - y  $\kappa$ -caseína) y las proteínas de suero de leche ( $\alpha$ -lactalbúmina y  $\beta$ -lactoglobulina), que representan el 80 % y el 20 % del contenido total de proteínas, respectivamente. Todas las proteínas pueden ser alérgenos potenciales.

Desde un punto de vista clínico, los pacientes con APLV pueden presentar una variedad de síntomas relacionados con el mecanismo inmune subyacente a la reacción alérgica. Basado en el mecanismo involucrado, el APLV se puede clasificar aún más en (a) mediado por IgE, que es causado por anticuerpos contra las proteínas de la leche que pertenecen a IgE, (b) no IgE (o mediado por células), donde el sistema inmunológico celular, y especialmente las células T, son responsables de la reacción alérgica, y (c) de tipo mixto cuando tanto la IgE como las células inmunes están involucradas.

La APLV mediada por IgE es la forma más común y representa aproximadamente el 60 % de todas las reacciones alérgicas inducidas por la LV. Es causado por la producción de IgE específica contra proteínas de la LV que se unen a los receptores IgE de alta afinidad en basófilos y mastocitos. Tras la exposición, las proteínas de la LV son reconocidas por dos o más IgEs específicas que se unen a receptores IgE de alta afinidad con la posterior reticulación del receptor y la activación de los mastocitos para liberar mediadores como la histamina, la triptasa y el factor de activación de plaquetas. Estos mediadores causan vasodilatación y provocan síntomas agudos en la piel, los sistemas gastrointestinal, respiratorio y cardiovascular. Las reacciones mediadas por IgE suelen ocurrir inmediatamente después de la ingestión de LV, o dentro de 1 a 2 horas, y pueden presentarse como urticaria aguda, angioedema, tos, sibilancias, disnea, dolor abdominal,

vómitos e hipotensión. En casos graves, también puede ocurrir anafilaxia, una reacción sistémica que puede ser mortal. El diagnóstico de APLV mediada por IgE se basa en la combinación de una historia médica compatible y evidencia de sensibilización de LV, es decir, la presencia de IgE específica en los mastocitos de la piel (pruebas de punción de la piel, SPT) y/o en el suero.

Las manifestaciones clínicas de la APLV varían ampliamente en tipo y gravedad. Se puede definir como una reacción adversa reproducible a una o más proteínas de la leche (generalmente caseínas o beta-lactoglobulina de suero) mediada por al menos un mecanismo inmune. La prevalencia de la APLV varía según los estudios, así como entre los criterios de diagnóstico y las dietas de los lactantes.

Los síntomas no asociados a la IgE se caracterizan por un retraso en la aparición de aproximadamente 2 horas a varios días después del consumo de LV. El período de 2 horas ayuda a excluir las reacciones no asociadas o no alérgicas a IgE. Los síntomas clínicos no asociados a IgE afectan principalmente al sistema gastrointestinal, e incluyen enterocolitis, proctocolitis, enteropatía y esofagitis eosinofílica. Los trastornos alérgicos gastrointestinales inducidos por alimentos no mediados por IgE tienen un pronóstico favorable y la mayoría de los síntomas desaparecen en uno a cinco años.

Los tipos de APLV no mediados por IgE han sido mucho menos estudiados. Los síntomas clínicos afectan principalmente al sistema gastrointestinal y se distinguen por el retraso en la aparición de los síntomas, que pueden variar de 2 h a varios días después de la ingestión de leche. Estos síntomas abarcan una amplia gama de trastornos, incluyendo la proctocolitis alérgica inducida por proteínas alimentarias, el síndrome de enterocolitis inducida por proteínas alimentarias, la enteropatía inducida por proteínas alimentarias y esofagitis eosinofílica. Estos trastornos afectan a diferentes segmentos del tracto gastrointestinal. Son causados por diferentes mecanismos mediados por células inmunitarias, pero tienen en común que todos conducen a la inflamación del tracto gastrointestinal.

Independientemente del mecanismo inmune subyacente y la presentación clínica, actualmente no hay un tratamiento eficaz para la APLV que no sea evitar la leche y el tratamiento de emergencia en casos de exposición accidental. Como resultado, la calidad de vida tanto del paciente como de los cuidadores se ve gravemente afectada debido a la ansiedad y el miedo a la ingestión involuntaria de la proteína de la LV, que puede poner en peligro la vida. La inmunoterapia oral sigue siendo una opción para los pacientes con APLV mediada por IgE que no superan la alergia. Sin embargo, su uso se limita a un pequeño número de pacientes y en centros con experiencia en el manejo de la inmunoterapia oral y

la capacidad de hacer frente a las reacciones adversas a menudo graves. Además, se requiere la administración de una fórmula de caseína ampliamente hidrolizada o una fórmula basada en aminoácidos como sustituto de la LV en la mayoría de los casos, lo que lleva a un aumento significativo en el costo del manejo de la enfermedad.

Las fórmulas hechas de proteínas de soja son opciones efectivas para los lactantes con galactosemia o deficiencia congénita de lactasa. Ayudan con las alergias a los cólicos y a la leche, sin embargo, en raras ocasiones, los niños que son alérgicos a la LV también pueden ser alérgicos a la bebida de soja. Los productos de soja no deben usarse en bebés menores de seis meses de edad con alergia alimentaria, debido a la presencia de fitoestrógenos y la preocupación de un daño potencial para el bebé, aunque esto sigue siendo controvertido.

Las fórmulas de hidrolizado de proteínas están destinadas a lactantes que no pueden tolerar la LV o las fórmulas a base de soja. Contienen proteínas que han sido hidrolizadas, parcial o ampliamente, en tamaños más pequeños que los que se encuentran en otros productos. Para los lactantes que tienen alergia a las proteínas, las fórmulas ampliamente hidrolizadas son una alternativa satisfactoria.

Las fórmulas de aminoácidos son otra opción para los lactantes que tienen alergia grave a la LV con reacciones o negativas a ingerir cantidades adecuadas de fórmula ampliamente hidrolizada. Proporcionan proteínas en forma de aminoácidos libres sin péptidos.

La eliminación de todos los productos de LV sin sustituciones adecuadamente modificadas y fortificadas puede conducir a desnutrición y/o deficiencias específicas de nutrientes en un momento crítico de crecimiento. Las fórmulas de leche infantil de diferentes animales (cabra, oveja, yegua, burro o camello), o las fórmulas a base de cordero o pollo, se han comercializado ampliamente como sustitutos de la LV en el manejo de la alergia en lactantes y niños. Sin embargo, otras fórmulas basadas en leche animal no son actualmente aceptables en muchos lugares ya que no hay ensayos clínicos aleatorios sólidos.

### Intolerancia a la lactosa

Los nutrientes introducidos con los alimentos interactúan con el cuerpo humano en el tracto gastrointestinal, por su digestión y absorción. El tracto gastrointestinal es una especie de barrera física contra muchas sustancias ingeridas potencialmente dañinas cuya integridad está crucialmente involucrada en la salud y la defensa del cuerpo humano. Hoy en día, es bien sabido que todo lo que de alguna manera altera o interrumpe la composición de la microbiota, como las moléculas de alimentos, sustancias químicas u otros tipos de factores estresantes, tiene el potencial de cambiar su funcionalidad, dañando la salud de las personas. Sin embargo, los nutrientes dietéticos y sus interacciones con las bacterias que

colonizan el tracto gastrointestinal son responsables del beneficio para la salud del huésped, llamado "simbiosis", como la capacidad de metabolizar la lactosa y otros carbohidratos en el intestino delgado para generar glucosa como fuente de energía. De lo contrario, las alteraciones en la composición y las funciones de la microbiota intestinal, llamadas "disbiosis", pueden conducir a la insurgencia de trastornos metabólicos crónicos o relacionados con el sistema inmunológico, y a varias intolerancias a nutrientes, como la intolerancia a la lactosa.

Las comunidades bacterianas exhiben variaciones cuantitativas y cualitativas influenciadas por factores químico-físicos relacionados con el huésped (es decir, ácidos biliares, pH, tiempo de tránsito y moco), factores ambientales (medicamentos y alimentos) y factores microbianos (enzimas bacterianas, capacidad de adhesión y estrategias metabólicas).

Por lo tanto, la lactosa asume un papel fundamental en la microbiota intestinal desde los primeros años de vida como componente estructural de los HMO. Cada molécula de HMO contiene un núcleo de lactosa, sujeto a escisión por *Bifidobacteria*, incluyendo *B. brevis*, *B. infantis*, *B. longum* y *B. lactis*, facilitada por la enzima  $\beta$ -hexosaminidasa. Luego, entra en juego la  $\beta$ -galactosidasa, hidrolizando la lactosa en glucosa y galactosa. Por lo tanto, la microbiota intestinal ocupa una posición central en la descomposición de los carbohidratos, particularmente para los carbohidratos vegetales complejos que evaden la digestión del huésped. Al mismo tiempo, contribuye significativamente al desarrollo adecuado del sistema inmunológico, actuando como una defensa contra los patógenos.

El enfoque correcto de la intolerancia a la lactosa incluye una dieta libre o baja en lactosa, adaptación del microbioma del colon, el uso de cepas probióticas específicas con actividad enzimática de  $\beta$ -galactosidasa y el reemplazo de la enzima de lactasa oral<sup>79</sup>.

Título	Autores	País	Año	Tipo	Principales hallazgos
<i>Escenarios lácteos y microbiota intestinal en los primeros 1000 días</i>	Benavidez, Guadalupe; Gerold, Ingrid; Tabacco, Omar; Vinderola, Celso Gabriel	Argentina	2023	Review	El crecimiento y desarrollo de una persona están determinados por su genética y factores ambientales desde la etapa embrionaria. La programación metabólica durante las etapas fetal y neonatal puede influir en la salud infantil y adulta, afectando el riesgo de enfermedades como la obesidad y otras enfermedades no transmisibles. Las alteraciones en la colonización bacteriana neonatal se asocian con un mayor riesgo de enfermedades, incluidas las alérgicas. Se espera que las fórmulas sigan
<i>Los primeros 1000 días: una oportunidad para reducir la carga de las enfermedades transmisibles</i>	José Manuel Moreno-Villares; María-Carmen Collado; Elvira Larqué; María-Rosaura Leis-Trabazo; Miguel Sáenz-de-Pipaon; Luis A Moreno-Aznar	España	2018	Review	

<i>La microbiota intestinal y su importancia en los primeros 1.000 días</i>	Álvarez Calatayud, Guillermo.	Francia	2019	Review	evolucionando a medida que se comprenda mejor cómo influir en la microbiota intestinal.
<i>Microbiome Composition in Pediatric Populations from Birth to Adolescence: Impact of Diet and Prebiotic and Probiotic Interventions</i>	Erin C. Davis; Andrew M. Dinsmoor; Mei Wang; Sharon M. Donovan	Estados Unidos	2021	Review	Los probióticos cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped. Acortan la duración de la gastroenteritis aguda, previenen la diarrea asociada a antibióticos, reducen el riesgo de enterocolitis necrotizante en bebés prematuros y reducen la incidencia de eczema en niños de alto riesgo.
<i>Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula</i>	Camilia R. Martin; Pei-Ra Ling; George L. Blackburn	Estados Unidos	2016	Review	Aunque la lactancia materna es altamente recomendada, no siempre es posible o suficiente. Las fórmulas infantiles, basadas en leche de vaca o soja, intentan imitar la composición de la leche materna y sirven como sustituto cuando la lactancia no es viable.
<i>Neonatal diet alters fecal microbiota and metabolome profiles at different ages in infants fed breast milk or formula.</i>	Lauren R Brink; Kelly E Mercer; Brian D Piccolo; Sree V Chintapalli; Ahmed Elolimy; Anne K Bowlin; Katelin S Matazel; Lindsay Pack; Sean H Adams; Kartik Shankar; Thomas M Badger; Aline Andres; Laxmi Yeruva	Estados Unidos	2020	Ensayo clínico: cohortes (n=98)	Existen diferencias significativas en la diversidad y abundancia bacteriana debido a las dietas infantiles en múltiples edades. Específicamente, los bebés alimentados con leche materna muestran mediciones de diversidad de microorganismos más bajas en comparación con lactantes alimentados con fórmulas. Se encuentran diferencias de microbiota entre los lactantes alimentados a leche materna en comparación con los alimentados con fórmulas tanto a base de leche de vaca (FV) como a base de soja (SF) desde los 0 hasta los 8 meses de edad. Los lactantes alimentados con SF tienen una mayor diversidad bacteriana y un mayor número de vías metabólicas alteradas que los grupos LM y FV, lo que sugiere que los componentes de la dieta de los recién nacidos promueven de manera única el crecimiento y desarrollo de la microbiota.
<i>Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: a study of 91 term infants</i>	Jingran Ma; Zhenghong Li; Wenjuan Zhang; Chunli Zhang; Yuheng Zhang; Hua Mei; Na Zhuo; Hongyun Wang; Lin Wang; Dan Wu	China	2020	Ensayo clínico: cohortes (n=91)	Los lactantes alimentados con SF tienen una mayor diversidad bacteriana y un mayor número de vías metabólicas alteradas que los grupos LM y FV, lo que sugiere que los componentes de la dieta de los recién nacidos promueven de manera única el crecimiento y desarrollo de la microbiota.
<i>The role of early life nutrition in the establishment of gastrointestinal microbial composition and function</i>	Erin C. Davis; Mei Wang; Sharon M. Donovan	Estados Unidos	2017	Review	El desarrollo de la microbiota intestinal del lactante humano es un proceso secuencial que comienza en el útero y continúa durante los primeros 2 a 3 años de vida. La composición y diversidad microbiana están determinadas por la genética del huésped y múltiples factores ambientales, de los cuales la dieta es el principal contribuyente.

<p><i>Desarrollo del microbioma intestinal en niños. Impacto en la salud y enfermedad</i></p>	<p>Serrano, Carolina; Harris, Paul R.</p>	<p>Chile</p>	<p>2016</p>	<p>Review</p>	<p>La microbiota humana comprende los microorganismos que viven en simbiosis con el cuerpo humano, siendo esencial para la salud. El "Proyecto Microbioma Humano" de 2012 ayudó a entender la composición y función del microbioma. Sin embargo, prácticas modernas como cesáreas, uso excesivo de antibióticos y alimentación con fórmula han alterado la microbiota, asociándose con enfermedades inflamatorias, autoinmunes y metabólicas.</p>
<p><i>The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota</i></p>	<p>Christian Milani; Sabrina Duranti; Francesca Bottacini; Eoghan Casey; Francesca Turroni; Jennifer Mahony; Clara Belzer; Susana Delgado Palacio; Silvia Arboleya Montes; Leonardo Mancabelli; Gabriele Andrea Lugli; Juan Miguel Rodriguez; Lars Bode; Willem de Vos; Miguel Gueimonde; Abelardo Margolles; Douwe van Sinderen; Marco Ventura</p>	<p>Estados Unidos</p>	<p>2017</p>	<p>Review</p>	<p>Estudios metagenómicos relacionan la composición de la microbiota infantil con enfermedades intestinales y condiciones como asma y trastornos metabólicos en la adultez. Esto ha impulsado estrategias para moldear la microbiota mediante alimentos funcionales. La revisión aborda los mecanismos de establecimiento, intervenciones y la importancia de las <i>bifidobacterias</i> en la salud.</p>
<p><i>Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study.</i></p>	<p>Christopher J. Stewart; Nadim J. Ajami; Jacqueline L. O'Brien; Diane S. Hutchinson; Daniel P. Smith; Matthew C. Wong; Matthew C. Ross; Richard E Lloyd; Harsha Vardhan Doddapaneni; Ginger A. Metcalf; Donna Muzny; Richard A. Gibbs; Tommi Vatanen; Curtis Huttenhower; Ramnik J. Xavier; Marian Rewers; William Hagopian; Jorma Toppari; Anette-G. Ziegler; Jin-Xiong She; Beena Akolkar; Ake Lernmark; Heikki Hyoty; Kendra Vehik;</p>	<p>Reino unido</p>	<p>2018</p>	<p>Ensayo clínico: cohortes (n=903)</p>	<p>El desarrollo de la microbiota desde la infancia hasta la niñez depende de una variedad de factores, y se cree que la interferencia microbiana-inmune durante este tiempo está involucrada en la patobiología de enfermedades posteriores. Sin embargo, hasta donde sabemos, ningún estudio ha realizado una caracterización exhaustiva del microbioma en las primeras etapas de la vida en una población grande y multicéntrica. La Microbiota intestinal en desarrollo pasa por tres fases distintas de progresión; una fase de desarrollo (meses 3 a 14), una fase de transición (meses 15 a 30) y una fase estable (meses 31 a 46). La recepción de leche materna, ya sea exclusiva o parcial, es el factor más importante asociado con la estructura de la microbiota. La lactancia materna se asoció con niveles más altos de especies de <i>Bifidobacterium</i> y el cese de la</p>

	Jeffrey P. Krischer; Joseph F. Petrosino				leche materna resulta en una maduración más rápida de la microbiota intestinal.
<i>The Role of the Gut Microbiome in Cow's Milk Allergy: A Clinical Approach</i>	Dafni Moriki; Maria Pilar Francino; Despoina Koumpagioti; Barbara Boutopoulou; José Ángel Rufián-Henares; Kostas N. Priftis; Konstantinos Douros	Grecia	2022	Review	La alergia a la leche de vaca (APLV), la alergia alimentaria más común en la infancia, ha aumentado debido a cambios ambientales y de estilo de vida que alteran el microbioma intestinal. Este microbioma interactúa con el sistema inmunológico y es crucial para la tolerancia a los alimentos. Se presentan datos sobre el papel del microbioma en la APLV y se discute su modificación como estrategia para la prevención y tratamiento.
<i>The Effect of Neutral Oligosaccharides on Reducing the Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Preterm infants: A Randomized Clinical Trial</i>	Amir-Mohammad Armanian; Alireza Sadeghnia; Maryam Hoseinzadeh; Maryam Mirlohi; AwatFeizi; Nima Salehimehr; Najme Saei; Jila Nazari	Iran	2014	Ensayo clínico: cohortes (n=88)	En los recién nacidos con muy bajo peso al nacer, se observó que la suplementación enteral de una mezcla prebiótica que consiste en oligosacáridos neutros fue eficaz en la reducción de la enterocolitis necrotizante. Otra característica que se observó en la suplementación con prebióticos en los niños con muy bajo peso al nacer es el aumento de peso y el peso de alta.
<i>Bebidas vegetales y leches de otros mamíferos</i>	Dávila de Campagnaro, Evila.	Venezuela	2017	Review	En cuanto a la leche de cabra, vaca, búfala y bebidas artesanales o vegetales, su uso y dilución en niños son desconocidos. Cada tipo de leche tiene una composición específica para sus crías, y las bebidas artesanales no son recomendadas para niños menores de dos años debido a riesgos como desnutrición y raquitismo.
<i>Fecal Short-Chain Fatty Acid Variations by Breastfeeding Status in Infants at 4 Months: Differences in Relative versus Absolute Concentrations</i>	Sarah L. Bridgman; Meghan B. Azad; Catherine J. Field; Andrea M. Haqq; Allan B. Becker; Piushkumar J. Mandhane; Padmaja Subbarao; Stuart E. Turvey; Malcolm R. Sears; James A. Scott; David S. Wishart; Anita L. Kozyrskyj	Canada	2017	Ensayo clínico: cohortes (n=163)	La microbiota intestinal proporciona una serie de funciones importantes, una de las cuales es el metabolismo de la fibra dietética y otros macronutrientes que el huésped no digiere. Los principales productos de este proceso de fermentación son los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y otros metabolitos intermedios, incluidos el lactato y el succinato. La producción de estos metabolitos depende de la dieta y de la composición de la microbiota intestinal. Cada vez hay más pruebas del papel de los AGCC en la fisiología del huésped y los procesos metabólicos, así como en las afecciones inflamatorias crónicas, como las enfermedades alérgicas y la obesidad.

<p><i>Cow's Milk: A Benefit for Human Health? Omics Tools and Precision Nutrition for Lactose Intolerance Management</i></p>	<p>Giovanni Pratelli; Bartolo Tamburini; Giusto Davide Badami; Marianna Lo Pizzo; Anna De Blasio; Daniela Carlisi; Diana Di Liberto</p>	<p>Italia</p>	<p>2024</p>	<p>Review</p>	<p>Propone reemplazar el enfoque de "talla única" con programas de nutrición hechos a medida, diseñados integrando datos nutrigenómicos junto con parámetros clínicos y perfiles de microbiota, teniendo en cuenta el umbral individual de tolerancia a la lactosa y necesidades en términos de ingesta de nutrientes específicos de cada individuo, lo cual podría ayudar a los pacientes con intolerancia a la lactosa a mejorar su calidad de vida, superando la depresión o la ansiedad que a menudo resultan de la percepción individual de esta condición como diferente de un estado normal.</p>
--	---	---------------	-------------	---------------	---

**Objetivo 4:** Explicar los mecanismos por los cuales la alimentación con fórmula láctea actúa en la inmunidad del intestino del lactante.

El desarrollo saludable del intestino es de suma importancia durante la infancia. Contribuye al crecimiento, al asegurar la digestión y la absorción de nutrientes y líquidos. El intestino también es clave en la formación de la inmunidad, ya que mantiene una barrera contra los agentes infecciosos e interactúa directamente con el sistema inmunológico para inducir tolerancia mucosa y sistémica, lo que previene las alergias<sup>80</sup>. Asimismo, influye en la formación de características neuroconductuales<sup>81</sup>. La fórmula infantil está pensada como un sustituto eficaz de la alimentación infantil, aunque no es posible producir un producto idéntico a la leche materna, se han hecho todos los esfuerzos posibles para imitar el perfil nutricional de la leche materna humana para el crecimiento y desarrollo normal del lactante.

Para promover una formación de microbiota intestinal comparable a la de un lactante amamantado, los fabricantes a menudo complementan la fórmula infantil con prebióticos y probióticos, que gracias a su efecto bifidogénico, pueden modular el sistema inmunológico. Dichas fórmulas son cada vez más similares a la LH en lo que respecta a la composición y función de los nutrientes, sin embargo, ciertamente no son idénticas, y la LH con su composición única y compleja sigue siendo el estándar de oro para la nutrición infantil. En la actualidad, las fórmulas suelen estar fortificadas con prebióticos, principalmente galactooligosacáridos de cadena corta (scGOS), solos o en una mezcla de inulina derivada de la raíz de achicoria que contiene fructooligosacáridos de cadena larga (lcFOS). Los prebióticos imitan el efecto bifidogénico de los HMO en la LH y se han asociado con una mejor inmunidad, una mejor función intestinal y otros efectos beneficiosos para la salud de los lactantes<sup>82</sup>.

## Probióticos

Según definición de consenso reciente<sup>80</sup>, los probióticos son microorganismos vivos que confieren un beneficio para la salud del huésped cuando se administran en cantidades adecuadas. Uno de los principales factores que permiten el funcionamiento y desarrollo intestinales adecuados es una microbiota intestinal equilibrada. En este sentido, la LH contribuye notablemente. En lo que respecta a las fórmulas infantiles, para favorecer esta similitud, se le proporcionan bioactivos dirigidos a la salud intestinal e inmunológica<sup>80</sup>.

Los siete géneros principales de organismos microbianos utilizados con mayor frecuencia en productos comerciales probióticos son *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia* y *Bacillus*<sup>83</sup>.

*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, posee las características fisicoquímicas que la avalan como probiótico, como la resistencia a los jugos gástricos, sales biliares y a pH bajo, y capacidad de adhesión al mucus intestinal, que generalmente se consideran seguras para uso alimentario.

La adición de estos ingredientes en fórmulas infantiles puede ayudar a corregir las alteraciones de la microbiota que se producen en los niños alimentados exclusivamente con fórmulas infantiles que no los contienen, o en niños que nacen por cesárea y no están expuestos a la microbiota del canal vaginal<sup>84</sup>.

Efecto beneficioso de las fórmulas infantiles (FI) enriquecidas con probióticos:

- La microbiota intestinal (MI) contribuye al desarrollo temprano y saludable de las funciones intestinales.
- Los microbios comensales son esenciales para la maduración del sistema inmunológico.
- La suplementación de FI con probióticos tiene como finalidad modular la actividad de la microbiota intestinal de los lactantes modificando su equilibrio.
- Los alimentos balanceados enriquecidos con probióticos tienen un beneficio modesto en la prevención de infecciones agudas del tracto gastrointestinal en lactantes sanos.
- Los probióticos reducen la incidencia de diarrea asociada a antibióticos.
- Cuestiones principales relacionadas con el uso de probióticos: momento y duración del tratamiento.

Una rápida colonización del intestino neonatal inmaduro con microbios tiene lugar al nacer, apoyada además por la dieta enteral y la leche. Este proceso inicia la organización de un complejo ecosistema de señales que conducen a la maduración intestinal postnatal, hacia

funciones digestivas e inmunológicas apropiadas, que se desarrollan aún más a través de la posterior y progresiva introducción y establecimiento de diferentes bacterias en la infancia y la niñez temprana. Las bacterias facultativas y aerobias se establecen primero, seguidas por anaerobios progresivamente más estrictos y finalmente, en individuos adultos, la microbiota intestinal incluye varios cientos de especies bacterianas, en su mayoría anaeróbicas.

La microbiota intestinal contribuye de diversas maneras a muchas funciones del intestino. Los microbios comensales son el principal impulsor de la maduración del sistema inmunológico. Las bacterias provienen de diferentes fuentes y del patrón de colonización, junto con varios aspectos de la maduración inmunológica intestinal. Están influenciadas por el modo de parto, los factores ambientales y dependen de la interacción con la microbiota intestinal específica del huésped. En este sentido, la colonización intestinal temprana se produce a través de la transferencia vertical madre-neonato de bacterias maternas. Por lo tanto, es concebible el papel potencial e importante, desempeñado por las fórmulas suplementadas con probióticos, en la influencia y posiblemente la determinación del perfil de la microbiota del lactante y su efecto positivo en la maduración intestinal.

La suplementación de FI con probióticos tiene el propósito de modular la actividad de la microbiota intestinal de los lactantes a través de la modificación de su equilibrio. Además del propósito de conferir propiedades promotoras de la salud, tiene un impacto en las características funcionales del producto, incluida la mejora del sabor y otras variables conocidas como características/propiedades de textura y sensación en boca, que pueden hacer que los alimentos sean atractivos o no<sup>83</sup>.

### Prebióticos

Los prebióticos se definen como sustratos que son utilizados selectivamente por los microorganismos del huésped y que confieren un beneficio para la salud<sup>85</sup>.

Algunos de los compuestos prebióticos más utilizados en alimentación infantil son fructooligosacáridos, galactooligosacáridos e inulina. Debido a su estabilidad, bajo riesgo de efectos adversos, facilidad de administración y potencial para influir en la composición y función de la microbiota en el intestino, sus aplicaciones clínicas se están expandiendo. Diferentes mezclas prebióticas de galactooligosacáridos y fructooligosacáridos en fórmulas infantiles consisten en galactooligosacáridos de cadena corta y fructooligosacáridos de cadena larga, scGOS/lcFOS (en una proporción de 9:1). La mezcla se encuentra en el rango de los HMO cercanos a la leche humana en cantidad (8 g/l) y diversidad, aunque no es estructuralmente similar a los HMO. La investigación clínica sobre scGOS/lcFOS (en una proporción de 9:1) mostró beneficios relacionados con la modulación de la microbiota

intestinal y el sistema inmunológico, la reducción de la incidencia de infecciones y el ablandamiento de las heces<sup>86</sup>.

Asimismo, la composición de la microbiota en lactantes alimentados con fórmulas suplementadas con prebióticos muestra ser más saludable en comparación con las fórmulas estándar, lo cual puede estar relacionado con otros parámetros intestinales, como el pH fecal. Un pH fecal más bajo crea un entorno menos favorable para las bacterias patógenas. Las fórmulas que contienen GOS/FOS promueven un pH fecal más bajo tras varias semanas, en comparación con las fórmulas enriquecidas con probióticos o las fórmulas regulares. Además, se observan niveles más favorables de ácidos propiónico y butírico, similares al perfil de ácidos grasos de cadena corta que se encuentra en los lactantes amamantados<sup>83</sup>.

La incorporación de prebióticos en las fórmulas infantiles tiene como objetivo modular la microbiota intestinal, favoreciendo el predominio de *bifidobacterias*, un mecanismo propuesto como protector frente a infecciones gastrointestinales y alergias comunes en los lactantes. Estos prebióticos, mediante una fermentación selectiva, estimulan el crecimiento de *bifidobacterias* y *lactobacilos*, lo que fortalece la barrera intestinal, protege contra patógenos y mejora la función inmunológica tanto local como sistémica.

La investigación y la innovación en el ámbito de las fórmulas infantiles pretende no sólo aproximar la composición nutricional a la de la leche materna, sino también aportar los beneficios a nivel funcional, especialmente en la protección que confiere frente a enfermedades infecciosas o de tipo metabólico, y la estimulación del desarrollo inmunológico o neurocognitivo<sup>84</sup>. Sin embargo, el posible impacto de alimentar a los lactantes con FI suplementada con prebióticos en la mayoría de los resultados clínicos aún no está claro y queda por seguir el camino de la investigación en términos de beneficios clínicos reales, potencialmente duraderos para la salud de los lactantes.

Considerando los beneficios bien establecidos de la leche materna, la recomendación incuestionable de amamantar siempre que sea posible, y teniendo en cuenta el papel central que desempeñan los pediatras en la prevención de eventos dañinos tempranos en la microbiota intestinal de los lactantes, las fórmulas enriquecidas con prebióticos, que brindan modulación de la microbiota intestinal al imitar a la leche humana, pueden considerarse como una alternativa segura a las FI estándar para ciertos lactantes que no son amamantados, como aquellos con heces duras<sup>83</sup>.

## HMO

Actualmente, solo 2'-fucosil-lactosa y lacto-N-neotetraosa están disponibles comercialmente para agregarlos a las fórmulas infantiles como ingredientes. Su mecanismo de acción se basa en la unión de dichos HMO a las bacterias patógenas, afectando la función de la barrera intestinal, que a su vez regula la inmunidad local y sistémica. Se ha demostrado que los HMO, tanto en lactantes como en adultos, modulan específicamente la microbiota intestinal al aumentar las *bifidobacterias* y reducir ciertas bacterias indeseables. Su utilización bacteriana, da como resultado la producción de metabolitos beneficiosos como los ácidos grasos de cadena corta. Hoy en día, cuando los HMO producidos comercialmente están cada vez más disponibles, sus propiedades beneficiosas los convierten en candidatos potenciales para mejorar la salud y abordar afecciones más allá de sus funciones conocidas en los lactantes<sup>86</sup>.

En la mucosa intestinal, los HMO imitan a los glicanos, previniendo la adhesión epitelial intestinal que conduce a la competencia con patógenos (bacterias virales, toxinas y/o eucariotas) y también constituyendo una biopelícula para inhibir el paso de patógenos. Además, tienen la capacidad de ser fermentados por bacterias comensales que promueven su crecimiento, inhibiendo también la colonización por patógenos; de manera que promueven la maduración intestinal aumentando el crecimiento de *Bifidobacterium*, induciendo también la producción de AGCC después de la fermentación de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. Los AGCC como el butirato y el propionato pueden estimular la liberación de mucina, aumentar el flujo sanguíneo de la mucosa, y modular las células epiteliales intestinales y las células caliciformes<sup>83</sup>.

Los HMO también pueden alterar directamente la expresión genética de las células epiteliales y la capacidad de unión de ciertos patógenos a las superficies celulares al cambiar la expresión del glicocáliz de la superficie celular<sup>87</sup>.

Los HMO interactúan con patógenos, receptores celulares y diversas células inmunitarias, actúan también como inmunomoduladores a través de su influencia en la microbiota intestinal y su unión a células del sistema inmunitario. Contribuyen a la prevención y tratamiento de diversas enfermedades, desde trastornos neurocognitivos hasta alergias. En el contexto de las fórmulas infantiles, tienen un impacto positivo en la barrera intestinal, incluyendo la activación del sistema de fosfatasa alcalina intestinal, que ayuda a prevenir la inflamación, y favorece la inmunidad. Además, existe evidencia de sus efectos beneficiosos sobre la función neurocognitiva y los mecanismos implicados. En particular, la 2'-fucosil-lactosa y la lacto-N-neotetraosa han demostrado tener efectos positivos en el desarrollo de los lactantes y se consideran seguras para su uso en fórmulas infantiles. Sin embargo, su

uso ha sido limitado debido al alto costo y la complejidad de su síntesis. A pesar de ello, los HMO más complejos y las combinaciones con otros oligosacáridos representan la mejor estrategia para estimular la barrera intestinal, el sistema inmunitario, el desarrollo cerebral y la prevención de enfermedades.

Actualmente, se prefieren los métodos enzimáticos, ya que tienen el rendimiento más eficiente de todos los métodos. Ciertamente, la investigación continúa mejorando el rendimiento de HMO para uso comercial, de manera que su adición sea común a todas las fórmulas infantiles. Entre los factores que contribuyen a esta limitación, se encuentra la dificultad de sintetizar artificialmente HMO más complejos, tanto en términos de estructura como de rendimiento, lo que da como resultado una disponibilidad limitada y mayores costos de producción para los oligosacáridos.

Aun así, las fórmulas infantiles se complementan cada vez más con HMO para imitar la leche materna y proporcionar a los lactantes la nutrición más completa y los beneficios que, de otro modo, se consideran exclusivos de la leche materna<sup>88</sup>.

### Simbióticos

La suplementación con simbióticos es un campo en evolución y avance que se define como "una mezcla, que comprende microorganismos vivos y sustrato(s) utilizado(s) selectivamente por microorganismos hospedadores, que confiere un beneficio para la salud del hospedador".

Debido a su efecto sinérgico entre prebióticos y probióticos, dichos simbióticos podrían ofrecer un efecto adicional sobre la homeostasis de la microbiota. Los mecanismos de acción incluyen resistencia a la colonización por patógenos a través del bloqueo de los sitios de adhesión, producción de sustancias inhibitoras, degradación de los receptores de toxinas, estimulación de la inmunidad y competencia por nutrientes. Los *lactobacilos* y las *bifidobacterias*, se utilizan comúnmente en estos simbióticos que, generalmente, pueden adherirse a la pared intestinal y producir nutrientes como el butirato, obstaculizar la adhesión, e inhibir el crecimiento de patógenos, además de estimular el sistema inmunológico y enriquecer la flora normal.

Aunque los alimentos balanceados enriquecidos con simbióticos han demostrado efectos positivos en la modulación de la microbiota y la actividad metabólica, lo que favorece el funcionamiento inmunológico intestinal, reduce los síntomas gastrointestinales y crea un entorno intestinal más parecido al de los lactantes amamantados, los datos actuales sobre alimentos complementarios suplementados con simbióticos son aún muy limitados para establecer indicaciones terapéuticas específicas. Se necesitan ensayos clínicos a largo

plazo y mejor diseñados para determinar qué especies y cepas de probióticos y prebióticos, ya sea de cepa única o múltiple, son las más adecuadas, así como las dosis óptimas, la duración de la ingesta y la seguridad de los simbióticos. Debido a estas limitaciones, no existen hasta ahora recomendaciones para el uso rutinario de fórmulas infantiles suplementadas con simbióticos<sup>83</sup>.

### Glóbulo graso

Uno de los nuevos ingredientes en fórmulas infantiles es la membrana del glóbulo graso lácteo, que aporta componentes como fosfolípidos y gangliósidos, así como proteínas bioactivas.

Durante el desarrollo perinatal, el componente de la membrana del glóbulo graso lácteo tiene funciones relevantes: a nivel intestinal posee efecto protector frente a infecciones, modula la microbiota intestinal e interviene en el desarrollo de la función inmune. A nivel cerebral, los gangliósidos están involucrados en numerosos procesos del desarrollo neuronal, como la mielinización y mantenimiento de la integridad axonal, en el desarrollo, diferenciación y maduración neuronal, en la transmisión de impulsos nerviosos, y en los procesos de formación de la memoria. El enriquecimiento de fórmulas infantiles con componentes de la membrana del glóbulo graso de la leche se asocia a una mejora en la función cognitiva del lactante. Asimismo, la microbiota intestinal asociada a las células epiteliales refuerza la función de barrera del epitelio al competir con los microorganismos patógenos por nutrientes y sitios de unión. Además, regula la expresión de proteínas clave, como ocludinas y claudinas, que controlan el espacio intercelular, y estimula la producción de péptidos antibacterianos, conocidos como defensinas, y de citoquinas, que contribuyen a la protección del huésped frente a patógenos<sup>84</sup>.

Otros componentes relevantes son los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, la  $\alpha$ -lactoalbúmina y los nucleótidos. La adición de estos ingredientes mejora el desarrollo cognitivo y reduce la incidencia de infecciones y alergias en los lactantes. La fracción membrana del glóbulo graso de la leche inhibe el rotavirus en condiciones in vitro; además, se ha demostrado que los esfingolípidos, en particular los gangliósidos, ejercen una inhibición sobre las enterotoxinas tanto in vitro como in vivo. Asimismo, se ha evidenciado que el enriquecimiento con esfingolípidos (gangliósidos) reduce los recuentos de *Escherichia coli* en las heces de los lactantes y promueve un aumento en la población de *bifidobacterias* beneficiosas<sup>84</sup>.

### Adición de $\alpha$ -lactoalbúmina

La principal razón para incorporar  $\alpha$ -lactoalbúmina en las fórmulas infantiles es su alto contenido de triptófano, además de lisina y cisteína. Sin embargo, es crucial reconocer que diversos péptidos liberados de la  $\alpha$ -lactoalbúmina durante la digestión pueden tener importantes bioactividades. Estos péptidos probablemente se formen en las primeras partes del tracto gastrointestinal, como el estómago y el duodeno, pero pueden desempeñar funciones relevantes en las porciones más distales del intestino delgado, como el yeyuno y el íleon, e incluso en el colon. La  $\alpha$ -lactoalbúmina se digiere y absorbe en forma de pequeños péptidos y aminoácidos. Se ha demostrado que el tripéptido inmunoestimulante Gly-Leu-Phe (GLF), presente tanto en la  $\alpha$ -lactoalbúmina humana como en la bovina, estimula la actividad fagocítica de los macrófagos, provocando la muerte bacteriana y brindando protección contra infecciones. Además, otros péptidos han mostrado actividad prebiótica al fomentar el crecimiento de *bifidobacterias*, mientras que algunos péptidos antibacterianos han sido eficaces contra patógenos como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* y *Candida albicans*. La acción sinérgica de los péptidos prebióticos, que promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas, junto con los péptidos antimicrobianos, que inhiben el crecimiento de patógenos, contribuye a una microbiota saludable, lo que a su vez puede mejorar la función inmunológica<sup>89</sup>.

### MicroRNAs

En los últimos años, ha aumentado el interés por las vesículas extracelulares presentes en la leche materna debido a su papel en diversos procesos celulares. Estas vesículas, que se dividen principalmente en exosomas y microvesículas, tienen diferentes vías de biogénesis y pueden variar en tamaño y contenido. Las vesículas extracelulares son estructuras con una membrana bilipídica que se liberan al entorno extracelular desde diversas células, facilitando la comunicación entre células a través de interacciones específicas con células receptoras. Estas vesículas contienen cantidades significativas de microRNAs (miRNAs), otros RNAs pequeños no codificantes y RNAs mensajeros, lo que les confiere un papel importante en la regulación de funciones celulares<sup>90</sup>.

Los miRNAs, estudiados por primera vez en 1993, fueron considerados como reguladores cruciales de la expresión genética a un nivel postranscripcional. Actúan uniéndose al RNA mensajero para inhibir la traducción de proteínas y/o inducir la degradación del RNA. Estos pequeños RNAs no codificantes, que tienen entre 19 y 24 nucleótidos, silencian genes al desestabilizar secuencias complementarias de mRNA, impidiendo así su traducción, o promoviendo la degradación del mRNA para inhibir la síntesis de proteínas. Es importante

destacar que un solo miRNA puede unirse a múltiples RNA mensajeros, lo que amplifica significativamente su capacidad reguladora<sup>91,92</sup>.

Los miRNAs extracelulares secretados se consideran ahora una forma clave de comunicación intercelular, junto con mecanismos como la unión celular, la adhesión, y las señales autocrinas, paracrinas y endocrinas. A pesar de la actividad de RNAsas en la leche, los miRNAs permanecen estables porque están contenidos en vesículas extracelulares con una bicapa lipídica que actúa como protección. Estas vesículas permiten que los miRNAs resistan el ambiente gastrointestinal del infante y sean absorbidos en el intestino, donde pueden influir en el sistema inmunológico, dado que el intestino es uno de los principales órganos inmunitarios. Los miRNAs pueden atravesar el intestino mediante diferentes mecanismos: la vía transcelular, la transcitosis o a través de las células inmunes presentes en la barrera intestinal<sup>92,93</sup>. Además, se debe considerar que el intestino de los recién nacidos se comporta de manera diferente al intestino maduro. En su estado inmaduro, presenta una mayor permeabilidad paracelular, lo que facilita una mayor transcitosis de macromoléculas. Muchos miRNAs han sido identificados como participantes en diversas redes de señalización del sistema inmunológico; hasta la fecha, se han descrito 59 miRNAs relacionados con la inmunidad en los exosomas de la leche humana. Investigar más a fondo las funciones beneficiosas de los miRNAs presentes en la leche durante la lactancia, y sus efectos a largo plazo, resultaría de gran interés, particularmente desde una perspectiva tecnológica, ya que su inclusión en la leche tendría importantes implicaciones socioeconómicas<sup>92</sup>.

*Alsaweed et al* encontraron miRNAs en las fórmulas lácteas a base de leche bovina y a base de soja. Observaron que estas dos fórmulas contienen muy pocas especies de miRNAs maduros, y estaban presentes en niveles de expresión muy bajos en comparación con las fracciones de leche humana. La fórmula a base de leche bovina contenía 45 miRNAs maduros en comparación con 22 en la fórmula a base de soja. De los miRNAs detectados en las fórmulas, 33 eran comunes entre la fórmula a base de leche bovina y la leche humana, mientras que solo 8 miRNAs eran comunes entre la fórmula a base de soja y la leche humana<sup>94</sup>. Los 5 miRNAs más abundantes en la leche materna y con mayor actividad de la función inmune, están también presentes en las leches de fórmula aunque en concentraciones menores.

El miR-148a induce la proliferación celular y la expresión de proteínas en células epiteliales de colon normales. Además promueve la sobreexpresión de los genes CD70 y LFA-1 a través de hipometilación. Estos genes están asociados con la supervivencia celular y la activación de células T, respectivamente<sup>95</sup>. Se ha demostrado que el miR-148a exhibe una actividad supresora de tumores al regular la expresión de genes como el DNMT1, DNMT3,

ERBB3 y ROCK1, que intervienen en el desarrollo, la proliferación y la metástasis de tumores. Los microARN altamente expresados en la leche, como el miR-148a y otros, pueden proteger al lactante del desarrollo del cáncer<sup>96</sup>.

El miR-181a es un regulador clave en el desarrollo, activación y diferenciación de células T, interviene en la activación del receptor de células T (TCR) en la selección tímica, así como las respuestas de células T periféricas. Una disminución en la expresión de miR-181a, debido a la transcripción reducida de pre-miR-181a, genera defectos en la activación de las células T<sup>97</sup>.

El miR-146b-5p desempeña un papel crítico en la regulación de la proliferación de células inmunes e inhibiendo las respuestas inflamatorias<sup>98</sup>. *Haein et al* demostraron que la expresión del miR146b aumenta notablemente durante la diferenciación de las células dendríticas. Además modula la producción de citocinas proinflamatorias en las células dendríticas maduras<sup>91,99</sup>.

El miR-155 puede promover la inflamación autoinmune al favorecer el desarrollo de células T inflamatorias. Este miRNA se regula positivamente en células mieloides y linfoides activadas. En las células T, miR-155 regula el desarrollo de las células T reguladoras (Treg) y su aptitud competitiva al reprimir SOCS1, y es esencial para el desarrollo de células Th17 durante la autoinmunidad<sup>100</sup>.

El miR-155 promueve la inflamación al inducir la activación de células T, mientras que el miR-146a modula la respuesta inmune al inactivar estas células. Ambos miRNAs juegan un papel crucial en la regulación del sistema inmunológico, la inflamación y la autoinmunidad. Las alteraciones en sus niveles de expresión están asociadas con el desarrollo de enfermedades autoinmunes, como la tiroiditis autoinmune (que incluye la tiroiditis de Hashimoto y la enfermedad de Graves), el lupus eritematoso sistémico (LES), la artritis reumatoide (AR) y el síndrome de Sjögren primario (SSP)<sup>101</sup>.

El miR-200a y el miR-141 están implicados en diversas enfermedades autoinmunes, además de su conocido papel en varios tipos de cáncer. Investigaciones sobre lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad inflamatoria intestinal (EII), psoriasis y otras enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario han revelado una desregulación de estos miRNAs. Se sugiere que miR-141 y miR-200a podrían ser fundamentales en la progresión de los síntomas de la esclerosis múltiple, ya que inducen la diferenciación de células Th17 e inhiben la diferenciación de células Treg. Se cree que estos microARN pueden inhibir los reguladores negativos de la diferenciación de células Th17, promoviendo así su desarrollo<sup>102</sup>.

### Implicaciones para las alergias e intolerancias alimentarias

Cada vez hay más pruebas de que las alteraciones tempranas en la microbiota pueden provocar afecciones alérgicas e intolerancias alimentarias.

El epitelio intestinal tiene una función crítica en el mantenimiento de la homeostasis corporal al servir como barrera protectora entre los órganos internos y la microbiota luminal. La inflamación de la mucosa se caracteriza por la ruptura de la barrera epitelial intestinal. En este sentido, una mayor exposición a los microbios luminales desencadena una respuesta inflamatoria perpetua. Como resultado de la inflamación de la mucosa intestinal, múltiples mecanismos pueden contribuir al desmontaje de la unión y a la ruptura de la barrera epitelial. Entre estos mecanismos se encuentran una disminución de la expresión de varias proteínas de unión estrecha y adherentes a la unión, una alteración del tráfico vesicular de los componentes de la unión, o una alteración del ensamblaje y la contractilidad de los citoesqueletos de actomiosina de la unión.

Una serie de variables pueden afectar la permeabilidad intestinal, incluida la modificación de la microbiota intestinal, el daño epitelial, los factores dietéticos y la disfunción de la capa de moco. Una disbiosis, que puede ser causada por factores ambientales, incluidos los medicamentos o la dieta, afecta la función de la barrera epitelial y produce citocinas proinflamatorias. Como resultado de este proceso, la integridad de la unión estrecha se daña y la permeabilidad intestinal aumenta, lo que resulta en el síndrome del intestino permeable. Por lo tanto, la disbiosis de la microbiota intestinal, además de afectar la integridad de la barrera epitelial intestinal, puede provocar la entrada de antígenos en el torrente sanguíneo y una estimulación anormal del sistema inmunitario. Por lo tanto, las enfermedades intestinales y sistémicas se han asociado con un deterioro de la función de la barrera intestinal.

Además, en la literatura se han descrito otros vínculos entre la microbiota intestinal y el sistema inmunitario. Por ejemplo, el tejido linfoide asociado al intestino es una red compleja de células inmunitarias situadas en la sección más profunda de la barrera intestinal. Las células dendríticas, las células dendríticas intraepiteliales, los linfocitos intraepiteliales, los macrófagos, los linfocitos TCD4+, las Treg, las células plasmáticas y los linfocitos B están contenidos dentro de la lámina propia. Otro ejemplo es la diferenciación de las células T auxiliares 1 (Th1), que es inducida por el contacto con bacterias en las primeras etapas de desarrollo. De ahí que, y teniendo en cuenta todo lo anterior, se ha postulado que las alergias podrían prevenirse regulando la microbiota intestinal<sup>81</sup>.

Por otro lado, la evidencia muestra que los metabolitos de los microbios, particularmente los AGCC formados después de la fermentación microbiana de la fibra no digerida, son críticos para mantener la integridad epitelial y estimular la tolerancia inmune. Varios estudios han demostrado que los sujetos alérgicos tienen niveles fecales bajos de AGCC, mientras que los niños cuya microbiota carece de genes relacionados con la fermentación de la fibra tienen un mayor riesgo de desarrollar sensibilización alérgica. Además, una reducción en la capacidad de catabolizar polisacáridos y la producción de moléculas proinflamatorias pueden ser factores que contribuyen a la inflamación alérgica.

Se ha demostrado que el riesgo de alergia alimentaria está influenciado por la colonización temprana de la microbiota intestinal en los lactantes, y la composición de dicha microbiota entre los 3 y 6 meses de vida puede afectar la resolución de la alergia a la leche en la infancia. Los niños cuya alergia a la leche se resuelve a los 8 años presentan una mayor abundancia de bacterias del género *Clostridia* y *Bacillota* en comparación con aquellos en los que la alergia persiste. El consumo de fórmula láctea durante los primeros seis meses también parece influir en esta composición bacteriana, ya que los lactantes con alergia a la leche de vaca presentan un mayor recuento total de bacterias, especialmente anaeróbicas, junto con niveles más altos de *Lactobacilos* y menores niveles de *Enterobacteriaceae* y *Bifidobacterium*<sup>81</sup>.

### Elegir la fórmula correcta en función de sus componentes

La mayoría de las fórmulas infantiles se producen a partir de leche de vaca, aunque la leche animal alternativa, como la de cabra y oveja, también se ha comercializado ampliamente como posibles sustitutos para el tratamiento de las alergias y debido a su mejor perfil lipídico. Como se mencionó anteriormente, otra opción es el uso de fórmulas derivadas de proteínas de soja, que han demostrado ser efectivas para los lactantes con galactosemia o deficiencias congénitas de lactasa. Se ha demostrado que estas fórmulas tratan los cólicos y las alergias a la leche, pero su uso no se recomienda para lactantes menores de 6 meses debido a la presencia de varios componentes, incluidos los fitoestrógenos. Las fórmulas de hidrolizado de proteínas están diseñadas para lactantes intolerantes o alérgicos a la leche de vaca o a las fórmulas a base de soja.

En la actualidad, los fabricantes consideran que las proteínas de arroz son una materia prima valiosa debido a su alto perfil nutricional y propiedades hipoalérgicas. El contenido de proteína de un grano de arroz varía según el genotipo, el clima y las prácticas culturales, pero suele estar entre el 7 y el 10 %. Se han desarrollado fórmulas de proteína de arroz hidrolizada y parecen ser una alternativa viable a las fórmulas de proteína de leche de vaca,

tanto para las familias que desean alimentar a sus hijos con comidas a base de plantas como para los niños con alergias a la proteína de la leche de vaca. Debido al marco legal de los alimentos para usos médicos especiales, tanto las fórmulas para la alergia a la proteína de la leche de vaca como la calidad de las proteínas del arroz permiten alimentar a lactantes y niños sin riesgo de deficiencias nutricionales.

Las fórmulas de aminoácidos representan una alternativa para los lactantes con una alergia grave a la leche de vaca que muestran una reacción o se niegan a consumir cantidades adecuadas de fórmula hidrolizada. Por último, existen fórmulas específicas diseñadas para lactantes con un defecto metabólico congénito, bajo peso al nacer o aquellos con una condición médica o dietética excepcional. Por ejemplo, los aditivos se emplean en fórmulas antirregurgitación para reducir el reflujo ácido; la exclusión de aminoácidos, como la fenilalanina, de las fórmulas infantiles para lactantes con fenilcetonuria; y un ejemplo adicional es la formulación de fórmulas con una mayor relación proteína/energía para lactantes con bajo peso al nacer o parto prematuro.

Aunque la lactancia materna es el método de alimentación más recomendado en la infancia, algunos aspectos, como la presencia de alérgenos en la leche materna o el efecto de la introducción temprana de alimentos alergénicos, aún no son concluyentes. Por lo tanto, los posibles factores modificadores (por ejemplo, la composición de HMO y AGCC, la introducción de alimentos sólidos y los factores inmunológicos) deben estudiarse más en profundidad<sup>81</sup>.

Título	Autores	País	Año	Tipo	Principales hallazgos
<i>The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic</i>	Colin Hill; Francisco Guarner; Gregor Reid; Glenn R. Gibson; Daniel J. Merenstein; Bruno Pot; Lorenzo Morelli; Roberto Berni Canani; Harry J. Flint; Seppo Salminen; Philip C. Calder; Mary Ellen Sanders	Internacional	2014	Documento de consenso de expertos	Representa las conclusiones de la reunión de consenso de la ISAPP (Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos) sobre el uso y el alcance adecuados del término probiótico.
<i>Relationship between Infant Feeding and the Microbiome: Implications for Allergies and Food Intolerances</i>	Lourdes Herrera-Quintana; Héctor Vázquez-Lorente; Daniel Hinojosa-Nogueira; Julio Plaza-Díaz	España	2024	Review	Examina la relación entre las prácticas de alimentación infantil y el microbioma, así como sus implicaciones en las alergias e intolerancias alimentarias en los bebés. Sintetiza la evidencia existente sobre cómo los diferentes hábitos

					alimentarios influyen en el microbioma.
<i>The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life</i>	Klaudyna Borewicz; Maria Suarez-Diez; Christine Hechler; Roseriet Beijers; Carolina de Weerth; Ilja Arts; John Penders; Carel Thijs; Arjen Nauta; Cordula Lindner; Ellen Van Leusen; Elaine E. Vaughan; Hauke Smidt	Países bajos	2019	Estudio longitudinal (n=443)	Demuestran que las fórmulas actuales suplementadas con scGOS (0,24–0,50 g/100 ml) o scGOS y lcFOS (en una proporción de 9:1; total 0,6 g/100 ml) tuvieron un fuerte efecto bifidogénico en comparación con las fórmulas tradicionales, y también dieron lugar a patrones alterados de colonización microbiana dentro del tracto gastrointestinal del lactante en desarrollo.
<i>Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics</i>	Glenn R. Gibson; Robert Hutkins; Mary Ellen Sanders; Susan L. Prescott; Raylene A. Reimer; Seppo J. Salminen; Karen Scott; Catherine Stanton; Kelly S. Swanson; Patrice D. Cani; Kristin Verbeke; Gregor Reid	Internacional	2017	Documento de consenso de expertos	Revisa aspectos de la ciencia prebiótica, incluidos su desarrollo, los beneficios para la salud y la legislación con el objeto de revisar la definición y el alcance de los prebióticos.
<i>Term Infant Formulas Influencing Gut Microbiota: An Overview</i>	Valentina Fabiano; Flavia Indrio; Elvira Verduci; Valeria Calcaterra; Tudor Lucian Pop; Alessandra Mari; Gian Vincenzo Zuccotti; Fugen Cullu Cokugras; Massimo Pettoello-Mantovani; Olivier Goulet	Europa	2021	Review	Resume los principales conceptos y características de los diferentes modelos de fórmulas infantiles enriquecidas con ingredientes bioactivos (oligosacáridos de leche humana, probióticos, prebióticos [fructooligosacáridos y galactooligosacáridos], o mediante la obtención de los llamados postbióticos también conocidos como productos de fermentación de la leche.
<i>Nuevos ingredientes en fórmulas infantiles. Beneficios sanitarios y funcionales</i>	M. Cristina de Almagro García; José Antonio Moreno Muñoz; Jesús Jiménez López; María Rodríguez-Palmero Seuma	España	2017	Review	Algunos de los ingredientes que se han adicionado recientemente a las fórmulas infantiles para asemejarlas a la Leche humana son las membranas del glóbulo graso lácteo, los prebióticos y los probióticos. Se suman a los ácidos grasos poliinsaturados, proteínas bioactivas como la $\alpha$ -lactoalbúmina, nucleótidos, colina, etc.

<i>Infant Formula Supplemented with Biotics: Current Knowledge and Future Perspectives</i>	Seppo Salminen; Bernd Stahl; Gabriel Vinderola; Hania Szajewska	Internacional	2020	Review	Analizar los avances más recientes en fórmulas infantiles, con especial atención a los oligosacáridos y los posbióticos de la leche materna.
<i>Immunomodulation by Human Milk Oligosaccharides: The Potential Role in Prevention of Allergic Diseases</i>	Marit Zuurveld; Nikita P. van Witzenburg; Johan Garssen; Gert Folkerts; Bernd Stahl; Belinda van't Land; Linette E. M. Willemsen	Países bajos	2020	Review	Destaca varias vías involucradas en los efectos inmunomoduladores del HMOS y el papel potencial en la prevención de enfermedades alérgicas.
<i>Non-digestible carbohydrates in infant formula as substitution for human milk oligosaccharide functions: Effects on microbiota and gut maturation</i>	Renate Akkerman; Marijke M. Faas; Paul de Vos	Países bajos	2018	Review	Analiza el conocimiento actual sobre las funciones de los HMO en el neonato con vistas a la posible sustitución de los HMO por carbohidratos no digeribles en las fórmulas infantiles y los métodos para acelerar la identificación de carbohidratos no digeribles adecuados y las relaciones entre estructura y función, ya que los estudios in vivo en bebés son imposibles.
<i>Infant formula and infant nutrition: bioactive proteins of human milk and implications for composition of infant formulas</i>	Bo Lönnerdal	Estados unidos	2014	Review	Aunque se han hecho esfuerzos para que los resultados relacionados con la nutrición de los lactantes alimentados con fórmula sean más similares a los de los lactantes amamantados, ha habido un progreso limitado con respecto a los componentes bioactivos que pueden afectar los resultados a corto y largo plazo.
<i>"Small talk" in the innate immune system via RNA-containing extracellular vesicles</i>	Susanne G. van derGrein; Esther N. M. Nolte-'t Hoen	Países bajos	2014	Review	Cómo los ARN asociados a las vesículas extracelulares contribuyen a los procesos de regulación inmunitaria.
<i>Human Milk MicroRNA and Total RNA Differ Depending on Milk Fractionation</i>	Mohammed Alsaweed; Anna R. Hepworth; Christophe Lefèvre; Peter E. Hartmann; Donna T. Geddes; Foteini Hassiotou	Australia	2015	Ensayo clínico (n=49)	Demuestra la presencia de ARN y, específicamente, de microARN en las tres fracciones de la leche humana, incluidas las células, los lípidos y la leche desnatada, y los niveles más altos de ARN y microARN se obtuvieron en las fracciones lipídica y celular.
<i>Breast milk microRNAs harsh journey towards potential effects in</i>	João Tomé Carneiro; Noelia F. Alonso; Cristina T.	España	2018	Review	Se centra en el camino que enfrentan los microARN de la leche materna hacia la confirmación como actores

<i>infant development and maturation. Lipid encapsulation can help</i>	Zapico; Francesco Visioli; Eduardo I. Gutierrez; Alberto Dávalos				relevantes en el desarrollo y la maduración de los lactantes, sobre la absorción, las barreras gastrointestinales y los posibles efectos biológicos de los microARN derivados de la dieta.
<i>Transfer and functional consequences of dietary microRNAs in vertebrates: Concepts in search of corroboration</i>	Kenneth W. Witwer; Kendal D. Hirschi	Estados Unidos	2014	Review	La entrada de miARN ingerido en las vías reguladoras preexistentes mediadas por ARN del cuerpo puede resultar específica del genotipo, las prácticas dietéticas y el estado de salud del consumidor y de la cantidad y variedades específicas de alimentos ingeridos.
<i>Human Milk Cells Contain Numerous miRNAs that May Change with Milk Removal and Regulate Multiple Physiological Processes</i>	Mohammed Alsaweed; Ching Tat Lai; Peter E. Hartmann; Donna T. Geddes; Foteini Kakulas	Australia	2016	Ensayo clínico (n=16)	Los miRNA expresados en mayor cantidad y de manera diferencial son clave de los componentes de la leche, con un valor diagnóstico potencial en el rendimiento de la lactancia. También están involucrados en el control del equilibrio de fluidos corporales, la sed, el apetito, la respuesta inmune y el desarrollo, lo que implica su importancia funcional para el lactante.
<i>Detection and Quantification of Immunoregulatory miRNAs in Human Milk and Infant Milk Formula</i>	Vélez-Ixta, Juan Manuel; Tizziani Benítez-Guerrero; Arlene Aguilera-Hernández; Helga Martínez-Corona; Karina Corona-Cervantes; Carmen Josefina Juárez-Castelán; Martín Noé Rangel-Calvillo; Jaime García-Mena.	México	2022	Estudio descriptivo transversal (n=60)	La expresión relativa de los miRNA inmunomoduladores es comparable en todas las muestras de calostro/leche humana y es mayor que la expresión en las fórmulas.
<i>Characterization and biological function of milk-derived miRNAs</i>	Regina Golan-Gerstl; Yaffa Elbaum Shiff; Vardit Moshayoff; Daniel Schecter; Dena Leshkowitz; Shimon Reif	Israel	2017	Ensayo clínico (n=13)	La leche humana y de mamíferos contiene miRNA ventajosos conocidos en los exosomas y también en la capa de grasa. Estos miRNA están altamente conservados en la leche humana, bovina y de cabra. Sin embargo, no se detectaron en varias fórmulas infantiles. Además, los miRNA presentes en la leche pudieron ingresar a las células normales y tumorales y afectar sus funciones biológicas.

<i>Regulation of miR-181a expression in T cell aging</i>	Zhongde Ye; Guangjin Li; Chulwoo Kim; Bin Hu; Rohit R. Jadhav; Cornelia M. Weyand; Jörg J. Goronzy	Estados Unidos	2018	Ensayo clínico (n=206)	YY1 controla la señalización de TCR regulando positivamente miR-181a y amortiguando los ciclos de retroalimentación negativa mediados por los objetivos de miR-181a
<i>miR-146 and miR-125 in the regulation of innate immunity and inflammation</i>	Lee, Hye-Mi; Kim, Tae Sung; Jo, Eun-Kyeong,	Korea	2016	Review	Describe los papeles de miR-146 y miR-125 en la modulación de la señalización inmunitaria innata. Estos microARN pueden controlar las respuestas inflamatorias y los resultados de las infecciones patógenas.
<i>MicroRNA-146a and MicroRNA-146b Regulate Human Dendritic Cell Apoptosis and Cytokine Production by Targeting TRAF6 and IRAK1 Proteins</i>	Haein Park; Xin Huang; Changming Lu; Mitchell S. Cairo; Xianzheng Zhou	Estados Unidos	2015	Ensayo clínico	El eje miR-146a/b-TRAF6/IRAK1-NF-κB es responsable de la apoptosis de las Células Dendríticas.
<i>Increased microRNA-155 and decreased microRNA-146a may promote ocular inflammation and proliferation in Graves' ophthalmopathy</i>	Kaijun Li; Yi Du; Ben-Li Jiang; Jian-Fe He	China	2014	Ensayo clínico (n=20)	El microARN-155 puede promover la inflamación autoinmune al mejorar el desarrollo de células T inflamatorias. Además, el miR-155 y el miR-146a están involucrados en la proliferación celular, la diferenciación y muchos otros procesos vitales.
<i>MicroRNA en enfermedades autoinmunes</i>	Isidro Alemán-Ávila; Daniel Cadena-Sandoval; Mayra Jiménez Morales; Julián Ramírez-Bello	México	2018	Review	Describir la biogénesis de los miRNA, su función, así como los perfiles de expresión y SNP en genes de miRNA asociados con diversas enfermedades autoinmunes, incluyendo tiroiditis autoinmune (tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Graves), lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y síndrome de Sjögren primario.
<i>miR-141 and miR-200a, Revelation of New Possible Players in Modulation of Th17/Treg Differentiation and Pathogenesis of Multiple Sclerosis</i>	Reza Naghavian; Kamran Ghaedi; Abbas Kiani-Esfahani; Mazdak Ganjalikhani-Hakemi; Masoud Etemadifar; Mohammad Hossein Nasr-Esfahani	Irán	2015	Ensayo clínico. (n=40)	miR-141 y miR-200a pueden ser microARN clave en la progresión de los síntomas de la EM al inducir la diferenciación de las células Th17 e inhibir la diferenciación a células Treg.

## Discusión y conclusión

Tres hipótesis explican la presencia y origen de las bacterias presentes en la MLH: la vía de inoculación retrógrada, la vía enteromamaria y la noción de microbiota mamaria residente. La primera es tradicionalmente aceptada, distintos estudios informaron el flujo retrógrado durante la lactancia a través ensayos de cohortes e imágenes de ultrasonido. Se necesita mayor investigación sobre la segunda que explique la transferencia de bacterias viables del tracto intestinal a la leche. La noción de microbiota mamaria residente es un concepto aún en debate<sup>10,12,18,19</sup>.

La MLH está compuesta por bacterias, arqueas, virus, protozoos y hongos anaeróbicos. Fue en 2003 cuando *Martin et al* aisló bacterias del ácido láctico y comprobó por vez primera que la leche humana era una fuente importante de bacterias del ácido láctico para el intestino infantil. Posteriormente varios estudios ratificaron el hallazgo<sup>8,21</sup>.

En un ensayo de gran magnitud en 2019, *Moossavi et al* comprobó que el 100 % de las muestras contenían 12 géneros principales de microorganismos. Paralelamente, *Togo et al* a través de una revisión sistemática informó la presencia de 820 especies en la MLH. Las diferencias entre especies y subtipos encontradas difieren según factores individuales, el tipo de muestreo y el procesamiento de las muestras. Es necesario establecer un método de investigación sistemático y estandarizado para investigar la MLH<sup>25,27</sup>.

Si bien está demostrado que el calostro contiene mayor abundancia de componentes inmunológicos y factores de desarrollo en comparación con la leche madura, no se disponen de estudios de gran envergadura con validez científica sobre el tipo y cantidad de especies presentes<sup>16, 31, 33</sup>.

Los factores que influyen en la composición de la leche humana incluyen la edad gestacional, el tipo de parto, la dieta materna, el sexo del lactante, el índice de masa corporal, la presencia de infección con virus de inmunodeficiencia humana, la hipertensión arterial, presencia de celiaquía y/o alergias, infecciones bacterianas y virales, el uso de antibióticos y la ubicación geográfica<sup>16,39,44</sup>.

El desarrollo de una microbiota intestinal saludable y la maduración del sistema inmunológico del lactante durante los primeros 1000 días de vida tiene un impacto significativo en la prevención de enfermedades crónicas. La lactancia materna (LM) es crucial en esta etapa. Cuando no es posible, se recomienda el uso de leche materna de bancos de leche o fórmulas infantiles bajo prescripción médica. Sin embargo, hasta la fecha, ninguna fórmula ha logrado igualar la composición de la leche humana ni promover una microbiota intestinal similar<sup>73, 75</sup>.

Según la revisión de *Huan Zhang et al* realizada en 2022, entre el primer y el séptimo día después del nacimiento, se produce un rápido y ordenado crecimiento en el microbioma bacteriano y la madurez de neutrófilos, monocitos y macrófagos, induciendo células T reguladoras intestinales (Treg) y citoquina reguladora IL-10. La diversidad y cantidad de microorganismos en el intestino, junto con sus subproductos, interactúan con las células inmunitarias, generando citoquinas y factores inmunológicos, así como el desarrollo del sistema inmunitario innato.

La evidencia sugiere que la microbiota intestinal puede tener funciones tanto patógenas como protectoras mediante receptores específicos y respuestas inmunitarias. La presencia y diversidad de bacterias gramnegativas afectan su capacidad para activar receptores tipo Toll (TLR), generando diversas respuestas inmunitarias. Las bacterias beneficiosas inducen la apoptosis, la síntesis de especies reactivas de oxígeno y la señalización de TLR, lo que ayuda a controlar la inflamación y a establecer defensas inmunitarias innatas<sup>52</sup>. Se ha documentado, además, que las interacciones entre la microbiota y las células del sistema inmunitario innato activan tanto las funciones de barrera física epitelial, como la síntesis de otros mediadores, regulando la respuesta de las células inmunitarias y favoreciendo la tolerancia a antígenos inocuos<sup>15</sup>.

La microbiota influye en gran variedad de funciones orgánicas como la transmisión de señales neuronales y endócrinas, producción de ácidos biliares secundarios, regulación circadiana de los glucocorticoides de forma dependiente del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), síntesis de compuestos neuroactivos, que influyen en las funciones cerebrales, el comportamiento, el metabolismo y la inmunidad<sup>15</sup>, fermentación de los carbohidratos, síntesis de vitaminas, reducción de la permeabilidad intestinal y el fortalecimiento del mecanismo de defensa epitelial<sup>53</sup> como afirman en sus respectivas revisiones *Álvarez et al* y *Na Shi et al*.

El análisis cuantitativo del sistema inmunitario, tanto el innato como el adaptativo, carece aún de técnicas completamente desarrolladas<sup>52</sup>.

La OMS, UNICEF y el Ministerio de Salud de Argentina desaconsejan ofrecer leche no modificada a menores de un año<sup>64</sup> debido a su composición inadecuada. En los últimos 30 años, el desarrollo de fórmulas infantiles enriquecidas con compuestos bioactivos ha avanzado considerablemente. La incorporación de probióticos y prebióticos no solo mejora la salud intestinal, sino que también puede influir positivamente en las características sensoriales de los productos alimenticios. Sin embargo, se requiere más investigación para determinar su impacto clínico a largo plazo en la salud del lactante<sup>83;84</sup>.

Los compuestos bioactivos presentes en la leche humana (hormonas, factores de crecimiento, citocinas, péptidos antimicrobianos, antioxidantes, inmunoglobulinas, lactoferrina, lisozima, glóbulos blancos, ácidos grasos de cadena corta y micro ARN) son capaces de inhibir la inflamación y mejorar la producción de anticuerpos específicos<sup>18,23,30</sup>.

Las disbiosis se asocian con un aumento de patógenos y una disminución en la diversidad microbiana. Pueden provocar inflamación crónica de bajo grado, incrementando el riesgo de desarrollar enfermedades no transmisibles<sup>67</sup>. En contraste, los lactantes alimentados con leche materna desarrollan una microbiota intestinal más competente y protectora, caracterizada por una alta abundancia de *bifidobacterias*, mientras que aquellos alimentados con fórmulas tienen una microbiota más diversa pero con menor presencia de *bifidobacterias*, siendo reemplazadas por *Bacteroides* spp. y miembros de las familias *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*<sup>68,70,73,74</sup>.

El uso de prebióticos en fórmulas infantiles, como galactooligosacáridos (GOS), fructooligosacáridos (FOS) y povidexina (PDX), busca imitar los beneficios de la leche materna al promover una microbiota intestinal saludable. Estos prebióticos, junto con probióticos, han demostrado beneficios en la reducción de la diarrea y en la mejora de la salud digestiva e inmunológica al aumentar la cantidad de *bifidobacterias* y *lactobacilos*<sup>73,75</sup>. Aunque el uso de probióticos está en expansión, se requiere más investigación para validar cepas específicas con efectos antialérgicos. La intolerancia a la lactosa se maneja con dietas bajas en lactosa y suplementos enzimáticos, ya que la microbiota intestinal y los probióticos pueden ayudar en la digestión de la lactosa<sup>79</sup>.

*Salminen et al* en una revisión en 2020 hallaron, entre los componentes de las fórmulas lácteas que actúan en la inmunidad del intestino del lactante, que los oligosacáridos de la leche humana (HMO) modulan la microbiota y previenen la adhesión de patógenos, estimulan la barrera intestinal, el sistema inmunitario, el desarrollo cerebral y la prevención de enfermedades. Se espera que su incorporación en las fórmulas infantiles se vuelva más común<sup>86,88</sup>. La adición de la membrana del glóbulo graso lácteo en fórmulas infantiles se asocia con beneficios significativos en el desarrollo cognitivo y la salud intestinal de los lactantes<sup>84,89</sup>. La incorporación de  $\alpha$ -lactoalbúmina no solo se justifica por su contenido nutricional, sino también por los péptidos bioactivos que se generan durante su digestión, los cuales promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas y combaten patógenos<sup>89</sup>.

El estudio de las vesículas extracelulares en la leche materna en relación con los miRNAs revela su importancia en la regulación de las funciones celulares, del sistema inmunológico y en la comunicación intercelular, lo que sugiere que estos componentes pueden tener

efectos significativos en la salud del lactante y en la prevención de enfermedades a largo plazo<sup>90,91,92,93</sup>. En un estudio descriptivo transversal efectuado en 2022, *Vélez-Ixta et al* informaron que los miRNAs más abundantes en la leche materna también presentes en las leche de fórmula son de gran importancia en la función inmune especialmente en función de las células T mediante activación, regulación, proliferación y diferenciación. La investigación adicional en este campo podría ofrecer valiosas implicaciones socioeconómicas y tecnológicas en la nutrición infantil<sup>90,95</sup>.

## Referencias

- [1] Hernández Á.G. *Tratado de Nutrición. Tomo III. Nutrición Humana en el Estado de Salud*. 2nd ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2010.
- [2] Organización Mundial de la Salud. [Internet] *Alimentación del lactante y del niño pequeño*. 2021 jun [citado 2023 Abr 14]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/infant-and-young-child-feeding>
- [3] Ministerio de Salud de la Nación. Dirección Nacional de Maternidad, Infancia y Adolescencia. [Internet] Argentina. *Situación de la lactancia materna en Argentina. Informe 2018*. [citado 2023 Abr 14] Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/situacion-de-lactancia-materna-en-la-argentina-2018>
- [4] Mangialavori G, Abeyá Gilardon E, Biglieri Guidet A, Durán P, Kogan L. *La alimentación de los niños menores de 2 años. Resultados de la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud -ENNyS 2010*. Buenos Aires; Ministerio de Salud; 2010. [Citado 2023 Abr 14]. Disponible en: <http://www.oda-alc.org/documentos/1341933892.pdf>
- [5] Ministerio de Salud y Desarrollo Social. [Internet] Argentina. *Segunda Encuesta Nacional de Nutrición y Salud. ENNyS 2. Indicadores priorizados*. Buenos Aires; 2019. [Citado 2023 Abr 14]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/2deg-encuesta-nacional-de-nutricion-y-salud-indicadores-priorizados>
- [6] Mangialavori G. L., Tenisi M., Fariña D., Gilardon E. O. Abeyá, E. N. *Prevalencia de lactancia materna en el sector público de salud de Argentina, según la Encuesta Nacional de Lactancia Materna, 2017*. Arch. argent. pediatr. [Internet]. 2022 jun [citado 2023 Abr 14]; 120(3): 4-4. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-00752022000300004&lng=eshttp://dx.doi.org/10.5546/aap.2022.152](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752022000300004&lng=eshttp://dx.doi.org/10.5546/aap.2022.152)
- [7] Brown J. E. *Nutrición en las diferentes etapas de la vida*. 5ta ed. México: Mc Graw Hill Education; 2014.
- [8] González-Rodríguez R. I., Jiménez-Escobar I., Gutiérrez-Castrellón P. *Microbiota de la leche humana y su impacto en la salud humana*. Gac. Méd. Méx [Internet]. 2020 [citado 2023 Abr 13]; 156 (Supl 3): 58-66. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-38132020000900058&lng=eshttps://doi.org/10.24875/gmm.m20000439](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132020000900058&lng=eshttps://doi.org/10.24875/gmm.m20000439)
- [9] De Kliegman R., St. Geme J., Stanton B., Schor N. Nelson. *Tratado de Pediatría*. 20th ed. Barcelona: Editorial Elsevier; 2016
- [10] Osorio L. M. Umbarila A. S. *Microbiota de la glándula mamaria* [Internet] marzo 2015 [citado 2023 Abr 11] Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-pediatria-213-articulo-microbiota-glandula-mamaria-S0120491215000026> <https://doi.org/10.1016/j.rcpe.2015.07.001>
- [11] Frias-Toral EP, Rodríguez-Veintimilla D. *Microbiota Intestinal y Cáncer*. Rev. Nutr. Clin. Metab. [Internet]. 4 de octubre de 2020 [citado 2023 Abr 13]; 4(1). Disponible en: <https://revistanutricionclinicametabolismo.org/index.php/nutricionclinicametabolismo/article/view/175> <https://doi.org/10.35454/rncm.v4n1.175>
- [12] Consales A, Cerasani J, Sorrentino G, Morniroli D, Colombo L, Mosca F, et al. *The hidden universe of human milk microbiome: origin, composition, determinants, role, and future perspectives*. Eur J Pediatr. [Internet] 2022 May [citado 2023 Abr 11]; 181(5):1811-1820. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9056486/> <https://doi.org/10.1007/s00431-022-04383-1>
- [13] Le Doare K, Holder B, Bassett A, Pannaraj PS. *Mother's Milk: A Purposeful Contribution to the Development of the Infant Microbiota and Immunity*. Front Immunol. [Internet] 2018 Feb; [citado 2023 Abr 14] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29599768/> <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00361>
- [14] Biagi E, Aceti A, Quercia S, Beghetti I, Rampelli S, Turrone S, et al. *Microbial Community Dynamics in Mother's Milk and Infant's Mouth and Gut in Moderately Preterm Infants*. Front Microbiol. [Internet] 2018 Oct [citado 2023 Abr 14]; 9:2512. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6204356/> <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02512>
- [15] Álvarez J., Fernández Real J.M., Guarner F., Gueimond M., Rodríguez J.M., Saenz de Pipaon M., et al. *Microbiota intestinal y salud* [Internet] 2021 sep [citado 2023 May 30] Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0210570521000583#abs0010> <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.01.009>
- [16] Mantziari A., Rautava S., *Factors influencing the microbial composition of human milk*, Seminars in Perinatology, [Internet] 2021 Dic [citado 2024abr 10] Volume 45, Issue 8, 2021, 151507, ISSN 0146-

0005, Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014600052100121X>  
<https://doi.org/10.1016/j.semperi.2021.151507>.

[17] Lyons KE, Ryan CA, Dempsey EM, Ross RP, Stanton C. *Breast Milk, a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health*. *Nutrients*. [Internet] 2020 apr [citado 2024 Mar 23] 9;12(4):1039. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7231147/> <https://doi.org/10.3390/nu12041039>

[18] Beghetti, I., Biagi, E., Martini, S., Brigidi, P., Corvaglia, L., & Aceti, A. *Human Milk's Hidden Gift: Implications of the Milk Microbiome for Preterm Infants' Health*. *Nutrients*, [Internet] 2019 Dic [citado 2024Mar22]11(12), 2944 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6950588/>  
<https://doi.org/10.3390/nu11122944>

[19] Oikonomou G, Addis MF, Chassard C, Nader-Macias MEF, Grant I, Delbès C, et al. *Milk Microbiota: What Are We Exactly Talking About?* *Front Microbiol*. [Internet] 2020 Feb [citado 2024 abr4]14; 11:60. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7034295/> <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00060>

[20] Wu, X., Jackson, R. T., Khan, S. A., Ahuja, J., & Pehrsson, P. R. *Human Milk Nutrient Composition in the United States: Current Knowledge, Challenges, and Research Needs*. *Current developments in nutrition*, [Internet] 2018 jul [citado 2024 mar 23] 2(7), nzy025. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6063275/#bib18> <https://doi.org/10.1093/cdn/nzy025>

[21] Kim, S. Y., & Yi, D. Y. *Components of human breastmilk: from macronutrient to microbiome and microRNA*. *Clinical and experimental pediatrics*, [Internet] 2020 mar [citado 2024mar22]63(8), 301,309. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32252145/> <https://doi.org/10.3345/cep.2020.00059>

[22] Plaza-Díaz, J., Fontana, L., & Gil, A. *Human Milk Oligosaccharides and Immune System Development*. *Nutrients*, [Internet] 2018 ago [citado 2024 mar 22] 10(8), 1038. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6116142/> <https://doi.org/10.3390/nu10081038>

[23] Ma, J., Palmer, D. J., Geddes, D., Lai, C. T., & Stinson, L. *Human Milk Microbiome and Microbiome-Related Products: Potential Modulators of Infant Growth*. *Nutrients*, [Internet] 2022 dic [citado 2024mar26]14(23), 5148. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9737635/> <https://doi.org/10.3390/nu14235148>

[24] Shin, D. Y., Park, J., & Yi, D. Y. *Comprehensive Analysis of the Effect of Probiotic Intake by the Mother on Human BreastMilk and Infant Faecal Microbiota*. *Journal of Korean medical science*, [Internet] 2021 mar [citado 2024 mar 26] 36(8), e58. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33650336/>  
<https://doi.org/10.3346/jkms.2021.36.e58>

[25] Moossavi, S., Sepehri, S., Robertson, B., Bode, L., Goruk, S., Field, C. J., et al. *Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors*. *Cell host & microbe*, [Internet] 2019 feb [citado 2024 abr 4] 25(2), 324,335. e4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30763539/> <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.011>

[26] Murphy K, Curley D, O'Callaghan TF, O'Shea CA, Dempsey EM, O'Toole PW, et al. *The Composition of Human Milk and Infant Faecal Microbiota Over the First Three Months of Life: A Pilot Study*. *Sci Rep*. [Internet] 2017 Jan [citado 2024 abr 10] 17; 7:40597. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28094284/>  
<https://doi.org/10.1038/srep40597>

[27] Togo, A., Dufour, J. C., Lagier, J. C., Dubourg, G., Raoult, D., & Million, M. *Repertoire of human breast and milk microbiota: a systematic review*. *Future microbiology*, [Internet] 2019 may [citado 2024 abr 10] 14, 623,641. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31025880/> <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0317>

[28] Stinson, L. F., Sindi, A. S. M., Cheema, A. S., Lai, C. T., Mühlhäusler, B. S., Wlodek, M. E., Payne, et al. *The human milk microbiome: who, what, when, where, why, and how?* *Nutrition reviews* [Internet], 2021 abr [citado 2023 May 29]79(5), 529,543. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32443154/>  
<https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa029>

[29] Fernández, L., Pannaraj, P. S., Rautava, S., & Rodríguez, J. M. *The Microbiota of the Human Mammary Ecosystem*. *Frontiers in cellular and infection microbiology* [Internet] 2020 nov [citado 2024 mar 26] 10, 586667. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.586667/full>  
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.586667>

[30] Andreas, N. J., Kampmann, B., & Mehring Le-Doare, K. *Human breastmilk: A review on its composition and bioactivity*. *Early human development* [Internet] 2015 sep [citado 2024 mar 26]91(11), 629,635. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26375355/> <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>

[31] Garofoli, F., Civardi, E., Pisoni, C., Angelini, M., & Ghirardello, S. *Anti-Inflammatory and Anti-Allergic Properties of Colostrum from Mothers of Full-Term and Preterm Babies: The Importance of Maternal Lactation*

in the First Days. *Nutrients*, [Internet] 2023 oct [citado 2024 mar 24] 15(19), 4249 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37836533/> <https://doi.org/10.3390/nu15194249>

[32] Toscano, M., De Grandi, R., Peroni, D. G., Grossi, E., Facchin, V., Comberiat, P., & Drago, L. *Impact of delivery mode on the colostrum microbiota composition*. *BMC microbiology* [Internet] 2017 sep [citado 2024 abr 04] 17(1), 205. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28946864/> <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1109-0>

[33] Drago, L., Toscano, M., De Grandi, R., Grossi, E., Padovani, E. M., & Peroni, D. G. *Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi*. *The ISME journal* [Internet] 2017 abr [citado 2024 mar 28] 11(4), 875–884. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27983720/> <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.183>

[34] Singh, P., Al Mohannadi, N., Murugesan, S., Almarzooqi, F., Kabeer, B. S. A., Marr, A. K., et al. *Unveiling the dynamics of the breast milk microbiome: impact of lactation stage and gestational age*. *Journal of translational medicine*, [Internet] 2023 nov [citado 2024 abr 10] 21(1), 784. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37932773/> <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04656-9>

[35] Lyons, K. E., Shea, C. O., Grimaud, G., Ryan, C. A., Dempsey, E., Kelly, A. L., et al. *The human milk microbiome aligns with lactation stage and not birth mode*. *Scientific reports*, [Internet] 2022 abr [citado 2024 abr 04] 12(1), 5598. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8979980/> <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09009-y>

[36] Urbaniak, C., Angelini, M., Gloor, G. B., & Reid, G. *Human milk microbiota profiles in relation to birthing method, gestation and infant gender*. *Microbiome*, [Internet] 2016 jan [citado 2024 mar 22] 4, 1. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26739322/> <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0145-y>

[37] Hermansson, H., Kumar, H., Collado, M. C., Salminen, S., Isolauri, E., & Rautava, S. *Breast Milk Microbiota Is Shaped by Mode of Delivery and Intrapartum Antibiotic Exposure*. *Frontiers in nutrition* [Internet] 2019 feb [citado 2024 mar 22] 6, 4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6369203/> <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00004>

[38] Simpson, M. R., Avershina, E., Storrø, O., Johnsen, R., Rudi, K., & Øien, T. *Breastfeeding-associated microbiota in human milk following supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* La-5, and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12*. *Journal of dairy science*, [Internet] 2018 feb [citado 2024 mar 22] 101(2), 889–899. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29248229/> <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13411>

[39] Williams, J. E., Carrothers, J. M., Lackey, K. A., Beatty, N. F., York, M. A., Brooker, S. L., et al. *Human Milk Microbial Community Structure Is Relatively Stable and Related to Variations in Macronutrient and Micronutrient Intakes in Healthy Lactating Women*. *The Journal of nutrition*, [Internet] 2017 sep [citado 2024 mar 24] 147(9), 1739–1748. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28724659/> <https://doi.org/10.3945/jn.117.248864>

[40] Sakanaka, M., Gotoh, A., Yoshida, K., Odamaki, T., Koguchi, H., Xiao, J. Z., et al. *Varied Pathways of Infant Gut-Associated *Bifidobacterium* to Assimilate Human Milk Oligosaccharides: Prevalence of the Gene Set and Its Correlation with *Bifidobacteria*-Rich Microbiota Formation*. *Nutrients*, [Internet] 2019 dic [citado 2024 mar 22] 12(1), 71. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7019425/> <https://doi.org/10.3390/nu12010071>

[41] Samuels, N., van de Graaf, R., Been, J. V., de Jonge, R. C., Hanff, L. M., Wijnen, R. M., et al. *Necrotising enterocolitis and mortality in preterm infants after introduction of probiotics: a quasi-experimental study*. *Scientific reports*, [Internet] 2016 ago [citado 2024 mar 22] 6, 31643. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4992873/> <https://doi.org/10.1038/srep31643>

[42] Duranti, S., Lugli, G. A., Milani, C., James, K., Mancabelli, L., Turroni, F., et al. **Bifidobacterium bifidum* and the infant gut microbiota: an intriguing case of microbe-host co-evolution*. *Environmental microbiology*, [Internet] 2019 oct [citado 2024 mar 26] 21(10), 3683–3695. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1462-2920.14705> <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14705>

[43] Davé, V., Street, K., Francis, S., Bradman, A., Riley, L., Eskenazi, B., et al. *Bacterial microbiome of breastmilk and child saliva from low-income Mexican-American women and children*. *Pediatric research* [Internet] 2016 jul [citado 2024 mar 26] 79(6), 846–854. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4899194/> <https://doi.org/10.1038/pr.2016.9>

- [44] Bender, J. M., Li, F., Martelly, S., Byrt, E., Rouzier, V., Leo, M., et al. *Maternal HIV infection influences the microbiome of HIV-uninfected infants*. *Science translational medicine*, [Internet] 2016 jul [citado 2024 mar 26] 8(349), 349ra100. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5301310/> <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf5103>
- [45] Wan, Y., Jiang, J., Lu, M., Tong, W., Zhou, R., Li, J., et al. *Human milk microbiota development during lactation and its relation to maternal geographic location and gestational hypertensive status*. *Gut microbes* [Internet] 2020 jun [citado 2024 abr 10] 11(5), 1438–1449. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7524296/> <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1760711>
- [46] Olivares, M., Albrecht, S., De Palma, G., Ferrer, M. D., Castillejo, G., Schols, H. A., et al. *Human milk composition differs in healthy mothers and mothers with celiac disease*. *European journal of nutrition*, [Internet] 2015 feb [citado 2024 abr 10] 54(1), 119–128. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00394-014-0692-1> <https://doi.org/10.1007/s00394-014-0692-1>
- [47] Soto, A., Martín, V., Jiménez, E., Mader, I., Rodríguez, J. M., & Fernández, L. *Lactobacilli and bifidobacteria in human breastmilk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors*. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, [Internet] 2014 jul [citado 2024 mar 26] 59(1), 78–88. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4086764/> <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000347>
- [48] Taghizadeh, M., Mirolohi, M., Poursina, F., Madani, G., Khoshhali, M., Bahreini, N., et al. *The influence of impact delivery mode, lactation time, infant gender, maternal age and rural or urban life on total number of Lactobacillus in breastmilk Isfahan - Iran*. *Advanced biomedical research*, [Internet] 2015 jul [citado 2024 abr 10] 4, 141. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4549918/> <https://doi.org/10.4103/2277-9175.161546>
- [49] Davis, E. C., Castagna, V. P., Sela, D. A., Hillard, M. A., Lindberg, S., Mantis, et al. *Microbioma intestinal y lactancia materna: implicaciones para el desarrollo inmunitario temprano*. *Revista de alergia e inmunología clínica*, [Internet] 2022 Sep [citado 2024 May 20] 150(3), 523–534. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9463492/> <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.07.014>
- [50] Uberos J. *Microbiota perinatal: Revisión de su importancia en la salud del recién nacido*. *Arch Argent Pediatr* 2020;118(3): e265-e270 [Internet] 2020 [citado 2024 May 19] Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n3a17.pdf> <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2020.e265>
- [51] Pannaraj, P. S., Li, F., Cerini, C., Bender, J. M., Yang, S., Rollie, A., et al. *Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome*. *JAMA pediatrics*, [Internet] 2017 Jul [citado 2024 May 19] 171(7), 647–654. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5710346/> <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2017.0378>
- [52] Zhang, H., Zhang, Z., Liao, Y., Zhang, W., & Tang, D. *The Complex Link and Disease Between the Gut Microbiome and the Immune System in Infants*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, [Internet] 2022 Jun [citado 2024 May 21] 12, 924119. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9241338/> <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.924119>
- [53] Shi, N., Li, N., Duan, X. *Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system*. *Military Med Res* 4, [Internet] 2017 Abr [citado 2024 May 22] Disponible en: <https://mmrjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40779-017-0122-9#citeas> <https://doi.org/10.1186/s40779-017-0122-9>
- [54] Jakaitis, B; & Denning, P; *Commensal and probiotic bacteria may prevent NEC by maturing intestinal host defenses*. *Pathophysiology*, Volumen 21, [Internet] 2014 Ene [citado 2024 May 22] Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928468013000771> <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2013.11.012>
- [55] Kalbermatter C., Fernandez Trigo N., Christensen S., Ganai-Vonarburg S.C. *Maternal Microbiota, Early Life Colonization and Breast Milk Drive Immune Development in the Newborn* [Internet] 2021 [citado 2024 May 21] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8158941/> <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.683022>
- [56] Donovan, S. M., & Comstock, S. S. *Human Milk Oligosaccharides Influence Neonatal Mucosal and Systemic Immunity*. *Annals of nutrition & metabolism*, 69 Suppl 2(Suppl 2), 42–51. [Internet] 2016 [citado 2024

may 10] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6392703/>  
<https://doi.org/10.1159/000452818>

[57] Triantis, V., Bode, L., & van Neerven, R. J. J. *Immunological Effects of Human Milk Oligosaccharides*. *Frontiers in pediatrics*, 6, 190. [Internet] 2018 [citado 2024 may 10] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6036705/> <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00190>

[58] Thai, J. D., & Gregory, K. E. *Bioactive Factors in Human Breast Milk Attenuate Intestinal Inflammation during Early Life*. *Nutrients*, 12(2), 581. [Internet] 2020 [citado 2024 may 27] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7071406/> <https://doi.org/10.3390/nu12020581>

[59] Hegar, B., Wibowo, Y., Basrowi, R. W., Ranuh, R. G., Sudarmo, S. M., Munasir, Z., et al. *The Role of Two Human Milk Oligosaccharides, 2'-Fucosyllactose and Lacto-N-Neotetraose, in Infant Nutrition*. *Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition*, 22(4), 330–340. [Internet] 2019 [citado 2024 may 10] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6629589/> <https://doi.org/10.5223/pghn.2019.22.4.330>

[60] Puccio, G., Alliet, P., Cajazzo, C., Janssens, E., Corsello, G., Sprenger, N., et al. *Effects of Infant Formula With Human Milk Oligosaccharides on Growth and Morbidity: A Randomized Multicenter Trial*. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 64(4), 624–631. [Internet] 2017 [citado 2024 may 10] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5378003/> <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001520>

[61] Castanys-Muñoz, E., Martín, M. J., & Vazquez, E. *Building a Beneficial Microbiome from Birth*. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 7(2), 323–330. [Internet] 2016 [citado 2024 May 8] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4785476/> <https://doi.org/10.3945/an.115.010694>

[62] Kim C. H. *Immune regulation by microbiome metabolites*. *Immunology*, 154(2), 220–229. [Internet] 2018 [citado 2024 May 8] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5980225/>  
<https://doi.org/10.1111/imm.12930>

[63] Qiao, J., Dai, L. J., Zhang, Q., & Ouyang, Y. Q. *A Meta-Analysis of the Association Between Breastfeeding and Early Childhood Obesity*. *Journal of pediatric nursing*, 53, 57–66. [Internet] 2020 [citado 2024 may 27] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.pedn.2020.04.024>

[64] Benavidez, G., Gerold, I., Tabacco, O., Vinderola, G. *Escenarios lácteos y microbiota intestinal en los primeros 1000 días*. *Arch Argent Pediatr* 2023;121(6): e202202851. [Internet] 2023 ene [citado 2024 mayo 14] Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2023/v121n6a02.pdf>  
<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2022-02851>

[65] Davis, E. C., Dinsmoor, A. M., Wang, M., & Donovan, S. M. *Microbiome Composition in Pediatric Populations from Birth to Adolescence: Impact of Diet and Prebiotic and Probiotic Interventions*. *Digestive diseases and sciences*, 65(3), 706–722. [Internet] 2020 mar [citado 2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7046124/> <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06092-x>

[66] Martin, C., Ling, P., Blackburn, G., *Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula*. *Nutrients* 2016, 8, 279 [Internet] 2016 abr [citado 2024 mayo 29] Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/8/5/279> <https://doi.org/10.3390/nu8050279>

[67] Moreno Villares, J., Collado, M., Larqué, El., Leis Trabazo, M., Sáenz de Pipaon, M., Moreno Aznar, L., *Los primeros 1000 días: una oportunidad para reducir la carga de las enfermedades transmisibles* *Nutr. Hosp.* vol.36 no.1 [Internet] 2018 dic [citado 2024 mayo 15] Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112019000100218&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112019000100218&lng=es)  
<https://dx.doi.org/10.20960/nh.02453>

[68] Álvarez Calatayud, G., *La microbiota intestinal y su importancia en los primeros 1.000 días* *El Probiótico*. [Internet] 2019 may [citado 2024 mayo 14] Disponible en: <https://www.elprobiotico.com/microbiota-intestinal-primeros-1000-dias/>

[69] Brink, L. R., Mercer, K. E., Piccolo, B. D., Chintapalli, S. V., Elolimy, A., Bowlin, A. K., et al. *Neonatal diet alters fecal microbiota and metabolome profiles at different ages in infants fed breast milk or formula*. *The American journal of clinical nutrition*, 111(6), 1190–1202. [Internet] 2020 abr [citado 2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7266684/> <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa076>

[70] Davis, E. C., Wang, M., & Donovan, S. M. (2017). *The role of early life nutrition in the establishment of gastrointestinal microbial composition and function*. *Gut microbes*, 8(2), 143–171. [Internet] 2017 ene [citado

2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5390825/>  
<https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1278104>

[71] Ma, J., Li, Z., Zhang, W., Zhang, C., Zhang, Y., Mei, H., et al. *Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: a study of 91 term infants*. Scientific reports, 10(1), 15792. [Internet] 2020 sep [citado 2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7519658/>  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-72635-x>

[72] Serrano, C, Harris, P., *Desarrollo del microbioma intestinal en niños. Impacto en la salud y enfermedad* Revista chilena de Pediatría vol.87 no.3 [Internet] 2016 may [citado 2024 Mayo 14] Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-chilena-pediatria-219-articulo-desarrollo-del-microbioma-intestinal-ninos--S0370410616300080> <https://doi.org/10.1016/j.rchipe.2016.04.002>

[73] Milani, C., Duranti, S., Botaccini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J. *The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota* Microbiology and Molecular Biology Reviews vol.81 no.4 [Internet] 2017 nov [citado 2024 Mayo 15] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706746/> <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>

[74] Stewart, C. J., Ajami, N. J., O'Brien, J. L., Hutchinson, D. S., Smith, D. P., Wong, M. C., et al *Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study*. Nature, 562(7728), 583–588. [Internet] 2018 oct [citado 2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6415775/> <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0617-x>

[75] Moriki, D., Francino, M. P., Koumpagioti, D., Boutopoulou, B., Rufián-Henares, J. Á., Priftis, K. N., et al. *The Role of the Gut Microbiome in Cow's Milk Allergy: A Clinical Approach*. Nutrients, 14(21), 4537. [Internet] 2022 oct [citado 2024 mayo 15] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9656688/>  
<https://doi.org/10.3390/nu14214537>

[76] Armanian, A. M., Sadeghnia, A., Hoseinzadeh, M., Mirlohi, M., Feizi, A., Salehimehr, N., et al. *The Effect of Neutral Oligosaccharides on Reducing the Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Preterm infants: A Randomized Clinical Trial*. International journal of preventive medicine, 5(11), 1387–1395. [Internet] 2014 nov [citado 2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4274545/>

[77] Dávila de Campagnaro, E., *Bebidas vegetales y leches de otros mamíferos* Archivos venezolanos de Puericultura y Pediatría [Internet] 2017 set [citado 2024 mayo 14] Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06492017000300007&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492017000300007&lng=es)

[78] Bridgman, S. L., Azad, M. B., Field, C. J., Haqq, A. M., Becker, A. B., Mandhane, P. J., et al *Fecal Short-Chain Fatty Acid Variations by Breastfeeding Status in Infants at 4 Months: Differences in Relative versus Absolute Concentrations*. Frontiers in nutrition, 4, 11. [Internet] 2017abr [citado 2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5385454/> <https://doi.org/10.3389/fnut.2017.00011>

[79] Pratelli, G., Tamburini, B., Badami, G. D., Lo Pizzo, M., De Blasio, A., Carlisi, D., et al *Cow's Milk: A Benefit for Human Health? Omics Tools and Precision Nutrition for Lactose Intolerance Management*. Nutrients, 16(2), 320. [Internet] 2024ene [citado 2024 mayo 24] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10819418/> <https://doi.org/10.3390/nu16020320>

[80] Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B. et al. *The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic*. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology, 11(8), 506–514. [Internet] 2014 Jun 10 [Citado 2024 Ago 07] Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>

[81] Herrera Quintana, L., Vázquez Lorente, H., Hinojosa Nogueira, D., Plaza Díaz, J., *Relationship between Infant feeding and the microbiome: Implications for Allergies and food Intolerances*. Children 2024, 11, 1030. [internet] Ago 2024 [Citado 2024 Sep 2] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/children11081030>

[82] Borewicz, K., Suarez-Diez, M., Hechler, C., Beijers, R., de Weerth, C., Arts, I., et al. *The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life*. Scientific reports. 9(1), 2434. [Internet] 2019 Feb 21 [Citado 2024 Ago 07] Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38268-x>

[83] Fabiano, V., Indrio, F., Verduci, E., Calcaterra, V., Pop, T. L., Mari, A., et al. *Term Infant Formulas Influencing Gut Microbiota: An Overview*. Nutrients, 13(12), 4200. [Internet] 2021 Dic 13 [Citado 2024 Ago 13] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu13124200>

- [84] Almagro García M. C., Moreno Muñoz J. A., Jiménez López J., Rodríguez-Palmero S. M. *Nuevos ingredientes en fórmulas infantiles: beneficios sanitarios y funcionales*. Nutr. Hosp.; 34 (Suppl 4): 8-12. [Internet] 2017 [citado 2024 Ago 05] Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112017001000003&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112017001000003&lng=es) <https://dx.doi.org/10.20960/nh.1564>
- [85] Gibson, G., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott S. L., Reimer R. A., Salminen S. J. et al. *Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics* Nat Rev Gastroenterol Hepatol 14. 491–502. [Internet] 2017 Ago 17 [Citado 2024 Ago 07] Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- [86] Salminen, S., Stahl, B., Vinderola, G., & Szajewska, H. *Infant Formula Supplemented with Biotics: Current Knowledge and Future Perspectives*. Nutrients. 12(7), 1952. [Internet] 2020 jun 30 [Citado 2024 Ago 07] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu12071952>
- [87] Zuurveld, M., van Witzenburg, N. P., Garssen, J., Folkerts, G., Stahl, B., Van't Land, B. *Immunomodulation by Human Milk Oligosaccharides: The Potential Role in Prevention of Allergic Diseases*. Frontiers in immunology, 11, 801 [Internet] 2020 May 07 [Citado 2024 Ago 14] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00801>
- [88] Akkerman, R., Faas, MM y de Vos, P. *Non-digestible carbohydrates in infant formula as substitution for human milk oligosaccharide functions: Effects on microbiota and gut maturation* Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 59 (9), 1486–1497. [Internet] 2018 Ene [Citado 2024 Ago 07] Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1414030>
- [89] Bo Lönnerdal. *Infant formula and infant nutrition: bioactive proteins of human milk and implications for composition of infant formulas*, The American Journal of Clinical Nutrition, Volume 99, Issue 3. [Internet] 2014 [Citado 2024 Sep 03] ISSN 0002-9165. Disponible en: <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.071993>.
- [90] Van der Grein, S. G., & Hoen, E. N. M. “Small Talk” in the Innate Immune System via RNA Containing Extracellular Vesicles. Frontiers in Immunology. [internet] Oct 2014 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00542>
- [91] Alsaweed, M., Hepworth, A. R., Lefèvre, C., Hartmann, P. E., Geddes, D. T., & Hassiotou, F. *Human Milk MicroRNA and Total RNA Differ Depending on Milk Fractionation*. Journal of Cellular Biochemistry. [internet] Abr 2015 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jcb.25207>
- [92] Tomé-Carneiro, J., Fernández-Alonso, N., Tomás-Zapico, C., Visioli, F., Iglesias-Gutierrez, E., & Dávalos, A. *Breast milk microRNAs harsh journey towards potential effects in infant development and maturation. Lipid encapsulation can help*. Pharmacological Research. [internet] Jun 2018 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.04.003>
- [93] Witwer, K. W., & Hirschi, K. D. *Transfer and functional consequences of dietary microRNAs in vertebrates: Concepts in search of corroboration*. Bio Essays. [internet] Ene 2014 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.1002/bies.201300150>
- [94] Alsaweed, M., Lai, C. T., Hartmann, P. E., Geddes, D. T., & Kakulas, F. *Human milk cells contain numerous miRNAs that may change with milk removal and regulate multiple physiological processes*. International Journal of Molecular Sciences. [internet] Feb 2016 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms17060956>
- [95] Vélez-Ixta JM, Benítez-Guerrero T, Aguilera-Hernández A, Martínez-Corona H, Corona-Cervantes K, Juárez-Castelan CJ, Rangel-Calvillo MN, García-Mena J. *Detection and Quantification of Immunoregulatory miRNAs in Human Milk and Infant Milk Formula*. Bio Tech [Internet] Abr 2022. [Citado 2024 sept 8] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biotech11020011>
- [96] Golan-Gerstl R, ElbaumShiff Y, Moshayoff V, Schechter D, Leshkowitz D, Reif S. *Characterization and biological function of milk-derived miRNAs*. Molecular Nutrition & food research. [Internet] Jun 2017 [Citado 2024 Sept 8] Disponible en: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700009>
- [97] Ye, Z., Li, G., Kim, C., Hu, B., Jadhav, R. R., Weyand, C. M., & Goronzy, J. J. *Regulation of miR-181a expression in T cell aging*. Nature Communications. [internet] Ago 2018 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05552-3>

[98] Lee, H.-M., Kim, T. S., & Jo, E.-K. *MiR-146 and miR-125 in the regulation of innate immunity and inflammation*. BMB Reports. [internet] Jun 2016 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2016.49.6.056>

[99] Park, H., Huang, X., Lu, C., Cairo, M. S., & Zhou, X. *MicroRNA-146a and MicroRNA-146b Regulate Human Dendritic Cell Apoptosis and Cytokine Production by Targeting TRAF6 and IRAK1 Proteins*. Journal of Biological Chemistry. [internet] Ene 2015 [Citado 2024 Ago 21] Disponible en: <https://doi.org/10.1074%2Fjbc.M114.591420>

[100] Li K, Du Y, Jiang BL, He JF. *Increased microRNA-155 and decreased microRNA-146a may promote ocular inflammation and proliferation in Graves' ophthalmopathy*. Med Sci Monit. [internet] Abr 2014 [Citado 2024 Sept 10] Disponible en: <https://doi.org/10.12659/MSM.890686>

[101] Alemán-Ávila I, Cadena-Sandoval D, Jiménez Morales M, Ramírez-Bello. *MicroRNA en enfermedades autoinmunes*. Gac. Méd. Méx [Internet] Feb 2019 [Citado 2024 Sept 8] Disponible en: <https://doi.org/10.24875/GMM.18003591>

[102] Reza N, Kamran G, Abbas KE, Mazdak GH, Masoud E, Mohammad Hossein NE. *miR-141 and miR-200a, Revelation of New Possible Players in Modulation of Th17/Treg Differentiation and Pathogenesis of Multiple Sclerosis* [Internet] May 2015 [Citado 2024 Sept 8] Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124555>