

# Annales Nestlé

Leche materna:  
lecciones a partir de  
la investigación reciente

Editor:  
Ferdinand Haschke

KARGER

Nestlé  
Nutrition Institute

# Leche materna: lecciones a partir de la investigación reciente

Editor

*Ferdinand Haschke, Salzburgo*

Consejo Editorial

*Jatinder Bhatia, Augusta, GA*

*Carlos Lifschitz, Buenos Aires*

*Maria Makrides, Adelaida, SA*

*Etienne Nel, Ciudad del Cabo*

*Frank M. Ruemmele, Paris*

*Hania Szajewska, Varsovia*

---

Reimpresión de *Annals of Nutrition and Metabolism* Vol. 69, Suppl. 2, 2016

### **Nota del Patrocinador**

Esta publicación se financió mediante una donación irrestricta del Nestlé Nutrition Institute. El instituto es una asociación sin fines de lucro que fue creada para proporcionar la información médica y científica más reciente a los profesionales de la salud en el campo de la nutrición pediátrica y del adulto y los trastornos relacionados con la nutrición (disponible en [www.nestlenutrition-institute.org](http://www.nestlenutrition-institute.org)).

Cualquier responsabilidad de los patrocinadores por el contenido de los artículos se considera descartada por este medio.

### **Declaración del Editor invitado**

F.H. es miembro del consejo editorial del Nestlé Nutrition Institute, una asociación sin fines de lucro que recibe donaciones para la educación provenientes de Nestec S.A y otras compañías.

S. Karger  
Medical and Scientific Publishers  
Basel • Freiburg • Paris • London •  
New York • Chennai • New Delhi •  
Bangkok • Beijing • Shanghai • Tokyo •  
Kuala Lumpur • Singapore • Sydney

#### **Deslinde de responsabilidad**

S. Karger AG no se hace responsable por errores u omisiones, o por cualquier consecuencia derivada del uso de la información aquí contenida.

#### **Dosis de medicamentos**

Los autores han realizado todos los esfuerzos posibles para asegurar que la selección de medicamentos y dosis mencionadas en el texto vayan de acuerdo con las recomendaciones actuales de práctica médica al momento de la publicación del mismo. Sin embargo, considerando las investigaciones actuales, los cambios en las regulaciones gubernamentales, y el constante flujo de información en relación con la terapia farmacológica y las reacciones medicamentosas, se insta al lector a revisar las etiquetas de los medicamentos en busca de cualquier cambio en cuanto a las indicaciones y dosis, y de advertencias adicionales. Esto es de particular importancia cuando el agente recomendado es un medicamento nuevo y/o que se utiliza con poca frecuencia.

#### **Todos los derechos reservados.**

Ninguna parte de esta publicación puede ser traducida a otros idiomas, reproducida o utilizada en cualquier forma o por cualquier medio, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones, microcopias, o por cualquier dispositivo de almacenamiento de información sin el consentimiento expreso de quien publica la obra.

© Copyright 2017 by Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG  
P.O. Box, CH-4009 Basel (Switzerland)

---

**KARGER**

Correo electrónico  
[karger@karger.com](mailto:karger@karger.com)

## Contenido

### 5 Editorial

Haschke, F. (Salzburg)

---

Leche materna: lecciones a partir de la investigación reciente

---

7 Enfoque en: Bancos de leche materna

### 8 Bancos de leche materna

Haiden, N. (Vienna); Ziegler, E.E. (Iowa City, IA)

16 Enfoque en: proteínas nutritivas y bioactivas en la leche materna

### 17 Proteínas nutritivas y bioactivas en la leche materna

Haschke, F. (Salzburg); Haiden, N. (Vienna); Thakkar, S.K. (Lausanne)

27 Enfoque en: Lípidos de la leche materna

### 28 Lípidos de la leche materna

Koletzko, B. (Munich)

41 Enfoque en: los oligosacáridos de la leche materna influyen en la mucosa neonatal y la inmunidad sistémica

### 42 Los oligosacáridos de la leche materna influyen en la mucosa neonatal y la inmunidad sistémica

Donovan, S.M. (Urbana, IL); Comstock, S.S. (East Lansing, MI)

Los artículos arriba mencionados fueron publicados originalmente como una edición complementaria de *Annals of Nutrition and Metabolism* y se reproducen aquí con autorización.

## Declaración de políticas

El Nestlé Nutrition Institute fue creado para proporcionar a los profesionales de la salud información actualizada sobre nutrición y trastornos relacionados con la nutrición a fin de permitirles mejorar la atención del paciente con base en los avances médicos y científicos más recientes.

Uno de los pilares principales del Nestlé Nutrition Institute es *Annales Nestlé*, una revista de pediatría que se ha publicado en forma regular desde 1942. Contiene artículos de revisión sobre práctica clínica e investigación en todos los campos de la pediatría, con enfoque en la nutrición.

*Annales Nestlé* se compone de tres números por año, y con un tiraje de alrededor de 50 000 copias por número, es una de las revistas de pediatría más leídas en el mundo.

*Annales Nestlé* es editada por un comité editorial independiente conformado por líderes de opinión en investigación pediátrica, garantizando así la imparcialidad médica y científica de la revista, y por lo tanto el alto nivel de respeto y aprecio entre los círculos médico y científico. El comité editorial establece la política editorial, identifica los temas a abordar, selecciona a los autores y se encarga del proceso de revisión de cada publicación.

Desde 2011, *Annales Nestlé* se publica como suplemento de *Annals of Nutrition and Metabolism* y se puede acceder a él en línea a través de PubMed.

Nos complace ofrecerle nuestro diseño innovador, el cual es resultado de la cooperación creativa y efectiva con **Karger Publishers, Suiza**.

Natalia Wagemans, MD  
Directora de  
Nestlé Nutrition Institute  
Vevey (Suiza)

## Editorial

La leche materna es la mejor fuente de nutrientes tanto para los lactantes de bajo peso al nacer (BPN) como para los lactantes de término sanos. Para los lactantes BPN, a menudo es un problema la disponibilidad de leche materna, en particular durante periodos prolongados de hospitalización inmediatamente después del nacimiento. Debido a que los lactantes BPN alimentados al seno materno tienen tasas menores de infección, debe mejorarse el suministro en los hospitales. Los lactantes de término alimentados al seno materno, en particular aquellos de los países en desarrollo presentan un menor número de infecciones y éstas tienen una menor duración. Cuando se comparan con los lactantes alimentados con fórmula, los lactantes de término alimentados con leche materna tienen diferente flora intestinal, muestran patrones de crecimiento diferentes e incluso enfrentan un menor riesgo a largo plazo de enfermedades crónicas, como obesidad, diabetes tipo 1 y 2 y enfermedad cardiovascular. En los últimos años, se ha puesto en claro que la leche materna proporciona tanto el suministro óptimo de nutrientes como de ingredientes funcionales, como proteínas, lípidos y oligosacáridos, lo cual contribuye a desenlaces de salud a corto y largo plazos. Aunque la composición de las fórmulas infantiles ha evolucionado con el creciente conocimiento de la leche materna, aún se observan resultados diferentes entre los lactantes alimentados al seno materno y los alimentados con fórmula. Los esfuerzos para mejorar la composición de las fórmulas infantiles son complicados debido a que la leche materna y sus componentes clave cambian en forma continua a través del tiempo. Como consecuencia, estrechar la brecha entre la leche materna y la fórmula infantil requiere de una comprensión profunda de la forma en que la cantidad y la calidad de los nutrientes clave cambian a través del tiempo.

Haiden y Ziegler [en este número, págs. 8 -16] revisan los bancos de leche materna en los hospitales, los cuales desempeñan un papel esencial al proporcionar leche materna para aquellos lactantes que de otra manera no la recibirían. La leche materna ayuda a proteger a los lactantes

BPN de la enterocolitis necrosante y la sepsis. Los bancos de leche recolectan, hacen estudios de detección, juntan, almacenan, procesan y distribuyen leche materna según procedimientos estandarizados. Se seleccionan con cuidado las mujeres donadoras y se les hacen pruebas en busca de enfermedades transmisibles. Aunque el tratamiento de la leche materna a base de calor disminuye las propiedades antiinfecciosas y otras propiedades benéficas, para los lactantes BPN, la leche de donadora sigue siendo altamente preferible en comparación con la fórmula. La red de bancos de leche materna en la actualidad está ya bien desarrollada en Sudamérica, Europa y Sudáfrica.

La proteína ingerida con la leche materna proporciona todos los aminoácidos indispensables que son necesarios para la síntesis de proteína nueva para el crecimiento y reemplazo de las pérdidas. Haschke y colaboradores [en este número, págs. 17 - 27] mencionan que las concentraciones de proteína en la leche materna son más altas durante los primeros meses cuando el aumento de peso diario y las necesidades de proteína para el crecimiento son también los más altos. Los lactantes BPN tienen requerimientos de proteína más altos que los lactantes de término y necesitan complementos proteínicos cuando se alimentan con leche materna. Con base en la mejor comprensión de la evolución de la proteína en la leche materna durante las etapas de la lactancia, se han creado nuevas fórmulas infantiles con concentraciones más bajas de proteína de alta calidad se acuerdo con las necesidades del lactante, se han probado con éxito y ahora están disponibles en muchos países. Los autores revisaron también las proteínas bioactivas de la leche materna y sus funciones, las cuales se clasifican en cuatro categorías principales, es decir, las que proporcionan protección contra agresiones microbianas e inmunoprotección, las que ayudan en las funciones digestivas, las que apoyan el desarrollo intestinal y las que son transportadoras de nutrientes. En efecto, algunas proteínas como la lactoferrina y la sIgA se han estudiado ampliamente por sus funciones biológicas también en los lactantes, mientras

que otras requieren de más datos para apoyar y validar sus funciones propuestas.

Koletzko [en este número, págs. 28-41] se enfoca en los componentes lípidos de la leche materna. La adición de lípidos complejos y membranas de glóbulos de grasa de leche como se encuentra en la leche materna, a una fórmula infantil a base de aceite vegetal tiene el potencial de aumentar el desarrollo del lactante y reducir las infecciones. La provisión de colesterol con la alimentación al seno materno modula el metabolismo del esteroide desde una etapa temprana de la vida y tal vez se induzcan beneficios a largo plazo como la disminución de las concentraciones de colesterol más tarde durante la vida. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, los ácidos docosahexaenoico (DHA) y araquidónico (ARA) se han estudiado ampliamente durante las últimas tres décadas. Los estudios recientes de interacciones gen-dieta, indican que la alimentación al seno materno, la cual proporciona DHA y ARA, mejora el desarrollo cognitivo y reduce el riesgo de asma en la edad escolar, en particular en aquellos niños con menor actividad de DHA y síntesis de ARA determinadas genéticamente. Parece prudente seguir el modelo biológico de los lípidos de la leche materna tanto como sea factible cuando se diseñen las fórmulas infantiles futuras.

Además de las proteína y lípidos bioactivos, la leche materna contiene una variedad de hidratos de carbono, oligosacáridos de leche materna (HMO, *human milk oligosaccharides*), que protegen al recién nacido y estimulan el desarrollo inmunitario innato y de adaptación. Donovan y Comstock [en este número, págs. 42 – 51] revisan el papel que desempeñan los HMO en el desarrollo y función neonatales de los sistemas gastrointestinal e inmunitario. En los estudios se ha mostrado que la leche materna contiene una mayor concen-

tración, una diversidad estructural más grande y un grado más alto de fucosilación que los oligosacáridos de la leche de otras especies, en particular la leche de vaca. La disponibilidad comercial de grandes cantidades de ciertos HMO han permitido estudiar las funciones de HMO específicos, entre las cuales se incluyen la protección del lactante de infecciones patógenas, lo que facilita el establecimiento de la microbiota intestinal, la promoción del desarrollo intestinal y la estimulación de la maduración inmunitaria. En fechas recientes se han agregado dos HMO a la fórmula infantil, la 2'-fucosilactosa (2'FL) y lacto-N-neotetraosa (LNnT). Los autores señalan que este es un paso inicial para estrechar la brecha de composición entre la leche materna y la fórmula infantil, aunque aún no está del todo claro si uno o dos HMO condensarán la complejidad de las acciones que ejerce la compleja mezcla de HMO en la leche materna. Sin embargo, agregar HMO a las fórmulas es un gran paso hacia adelante en comparación con la adición de 'prebióticos' de primera generación a la fórmula hace más de una década.

Los conocimientos nuevos sobre los componentes funcionales en la leche materna confirman su influencia en el desarrollo intestinal y la microbiota, el desarrollo inmunitario y la respuesta, así como el crecimiento. Además, apoyan las actuales recomendaciones internacionales de que todos los lactantes deben alimentarse al seno materno más allá de los seis meses y que los lactantes BPN deben tener acceso a leche materna desde el primer día de su nutrición enteral. Los productores de fórmula infantil tienen el reto de estrechar aún más la brecha con la leche materna.

*Ferdinand Haschke*



## La leche materna ejerce efectos tróficos fuertes sobre el intestino del lactante, lo que permite alcanzar las alimentaciones enterales completas antes que sin la leche materna

Reimpreso con permiso de: *Ann Nutr Metab* 2016;69 (suppl 2):8 - 15

### Bancos de leche materna

Por Nadja Haiden y Ekhard E. Ziegler

#### Puntos clave

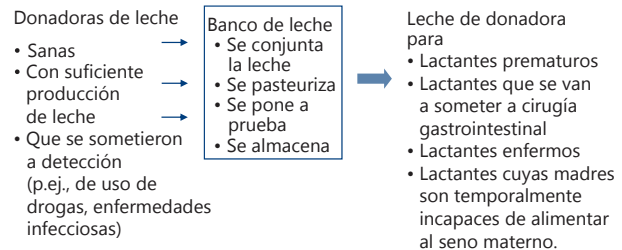
La leche materna tiene un efecto protector para los lactantes prematuros que están en riesgo de enterocolitis necrosante y sepsis, dos padecimientos relacionados con tasas altas de mortalidad. Los bancos de leche recolectan, hacen detección, almacenan, procesan y distribuyen la leche materna cuando se necesita. Los procedimientos estrictos de control de calidad que siguen los bancos de leche aseguran la seguridad de la leche donada al mismo tiempo que se mantienen muchos de los efectos benéficos de la leche materna cruda.

#### Conocimiento actual

Existen muchas circunstancias en las que no se dispone de la leche de la madre del lactante, o es insuficiente. Los bancos de leche funcionan como almacén de la leche donada. La práctica más frecuente es conjuntar leche de múltiples donadoras, con el fin de asegurar una distribución pareja de nutrientes como proteína y grasa. La leche donada a menudo se pasteuriza mediante el proceso Holder y se congela hasta durante 1 año. Este método de pasteurización ofrece un término medio entre la seguridad microbiológica y la calidad biológica. La típica donadora de leche está a mediados de la edad reproductiva, con una producción de leche suficientemente grande para permitir la donación de leche mientras que satisface las necesidades de su propio hijo. A las donadoras se les hacen estudios de salud general, que incluyen uso de drogas recreativas y enfermedades infecciosas como virus y sífilis.

#### Implicaciones prácticas

Los lactantes prematuros representan el grupo más grande de receptores de leche donada. Debido a su alto riesgo de infección y enterocolitis necrosante, los lactantes prematuros obtienen los mayores beneficios al recibir



Los bancos de leche son los proveedores más importantes de leche materna donada.

leche materna. En el mundo entero, existe un creciente interés en los bancos de leche materna, y se hacen esfuerzos para introducir bancos de leche incluso en las regiones del tercer mundo. Las directrices provenientes de sociedades pediátricas internacionales indican que si no se dispone de leche de la propia madre, la leche donada debe ser la siguiente elección. La leche materna debe almacenarse en bancos establecidos que se adhieran de manera estricta a directrices de seguridad.

#### Lectura recomendada

Arslanoglu S, et al; ESPGHAN Committee on Nutrition: Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57: 535 – 542.



## Bancos de leche materna

Nadja Haiden<sup>a</sup> Ekhard E. Ziegler<sup>b</sup>

<sup>a</sup>División de Neonatología, Pediatric Intensive Care Medicine and Neuropediatrics, Departamento de Pediatría y Medicina del Adolescente, Medical University of Vienna, Viena, Austria;

<sup>b</sup>Departamento de Pediatría, University of Iowa, Iowa City, IA, USA

### Mensajes clave

- La leche de donadora proveniente de los bancos de leche materna es esencial para los lactantes prematuros y enfermos.
- Los bancos de leche siguen directrices estrictas para el almacenamiento, procesamiento y manejo de la leche materna para asegurar la seguridad de la leche de donadora.
- La leche pasteurizada de donadora retiene muchos de los efectos benéficos para la salud de la leche materna cruda.

### Palabras clave

Banco de leche materna · Donadora de leche · Procesamiento de la leche · Pasteurización · Lactantes prematuros · Lactantes enfermos

### Resumen

Los bancos de leche materna desempeñan un papel esencial al proporcionar leche materna a lactantes que de otra manera no sería posible que la recibieran. El grupo más grande de receptores es el de los lactantes prematuros quienes obtienen muchos beneficios sustanciales con ella. La leche materna protege a los lactantes prematuros de la enterocolitis necrosante y de la sepsis, dos padecimientos devastadores. Los bancos de leche recolectan, hacen estudios de detección, almacenan, procesan y distribuyen la leche materna. Las donadoras suelen amamantar a sus

propios lactantes y tienen una producción de leche que supera las necesidades de sus hijos. Las donadoras se seleccionan con cuidado y se someten a pruebas de detección de VIH-1, VIH-2, virus de leucemia de células T humanas 1 y 2, hepatitis B, hepatitis C y sífilis. En el banco de leche, la manipulación, almacenamiento, procesamiento, reunión en un fondo común y el estudio de detección bacteriana siguen algoritmos estandarizados. El tratamiento térmico de la leche materna disminuye sus propiedades antiinfecciosas, componentes celulares, factores de crecimiento y nutrientes. Sin embargo, los efectos benéficos de la leche de donadora siguen siendo significativos y la leche de donadora es preferible en comparación con la fórmula.

© 2017 Nestec Ltd., Vevey/ S. Karger AG, Basel

### Introducción

Es probable que no se aprecie ampliamente que los bancos de leche materna son una absoluta necesidad, si es que se desea que todos los lactantes disfruten de los beneficios de la leche materna. Esto se debe a que un gran número de lactantes, en especial los prematuros, no recibe cantidades adecuadas de leche de sus madres, por una variedad de razones. Si no fuera por los bancos de leche, estos lactantes no se alimentarían con leche materna y sufrirían las consecuencias. Los lactantes prematuros obtienen protecciones muy importantes de la leche materna.

Por desgracia, existen circunstancias en las que la leche de la madre del lactante no está disponible. La leche donada por otras mujeres (leche de donadora) debe llenar esta brecha.

Los lactantes prematuros constituyen el grupo más grande e importante de lactantes en donde se necesita la leche de otras mujeres porque no se dispone de suficiente cantidad de leche de sus propias madres. Los bancos de leche materna recolectan, hacen detección, pasteurizan y distribuyen la leche materna donada a hospitales o receptores externos [1]. La recolección, almacenamiento y procesamiento en los bancos de leche materna suelen seguir directrices establecidas. Los bancos de leche son por mucho los proveedores más importantes de leche de donadora, a pesar de que también se utilizan otros sitios de donación de leche.

### Historia

El primer banco de leche materna se fundó en 1909 en Viena, Austria. En Europa se practicaba ampliamente el uso de nodrizas durante el Siglo XIX con el fin de proporcionar leche materna a los lactantes cuyas madres no podían proporcionarles leche. Sin embargo, no siempre había nodrizas disponibles, y cuando lo estaban, por lo general llevaban estilos de vida poco saludables o portaban infecciones que se transmitían a través de la leche. Los bancos de leche materna fueron una alternativa para sustituir a las nodrizas.

Poco después de Viena, se abrió el primer banco de leche en Estados Unidos en el *Boston Floating Hospital* y muchos otros le siguieron en todo el mundo. En la década de 1960, disminuyeron los esfuerzos de los bancos de leche materna debido a los avances en la atención médica neonatal y nutrición infantil, sobre todo por el desarrollo de fórmulas infantiles de alta calidad. En la década de 1980, se inició la nueva infección por VIH. Y como se transmite a través de la leche, esto llevó al cierre de muchos bancos de leche. Una vez que se reconoció la transmisión de la enfermedad a través de la leche como un peligro para la salud, se hizo necesaria la prueba serológica. La carga financiera agregada llevó a la bancarrota a muchos bancos de leche. La detección adecuada de las madres donadoras, así como la adherencia a procedimientos estándar, ha revertido la tendencia desde principios del 2000.

La actividad de los bancos de leche varía mucho entre las diferentes partes del mundo debido a diversas razones: en ocasiones las razones tienen que ver con la economía y los financiamientos y en otras están vinculadas con factores religiosos y culturales. En el mundo en general, existe un creciente interés en los bancos de leche. En la actualidad existe un movimiento para abrir muchos bancos de leche en la India y otros países asiáticos como Vietnam, China y Japón. El aumento del interés va unido a las recomendaciones de grandes sociedades pediátricas, como ABM, ESPHGAN y AAP, para promover la alimentación con leche materna en los lactantes prematuros [2-4]. Todas las directrices dicen que la leche de la propia madre es la primera opción para el lactante. Sin embargo, si no está disponible, se recomienda como alternativa la leche de donadora. Otra recomendación

**Cuadro 1.** Bancos de leche establecidos y planeados, por continente

Países con bancos de leche	Número de bancos de leche establecidos	Número de bancos de leche planeados
Europa		
25 países	206	14
Asia		
India	22	Muchos
China	12	?
Kuwait	1	–
Filipinas	6	?
Malasia		1
Singapur	–	1
Vietnam	–	1 (a punto de abrir)
Taiwán	1	
Tailandia	1	
Irán	1	
Australia		
Australia	4	1
Nueva Zelanda	1	
África <sup>a</sup>		
Otros	3	?
Cabo Verde	1	
Sudáfrica	aprox. 60	
Camerún	6	?
EUA y Canadá	26	?
Sudamérica		
9 países	258	?
Centroamérica que incluye las Islas del Caribe		
México	17	?
Otros	28	?

Datos proporcionados por la *European Milk Bank Association* (EMBA). <sup>a</sup> Bancos planeados para Kenia y Nigeria.

importante es que la leche materna de donadora debe proporcionarla un banco establecido que siga las directrices de seguridad estándar.

El Cuadro 1 presenta una revisión rápida de los bancos de leche materna establecidos y planeados en todo el mundo.

### ¿Por qué se está poniendo en bancos la leche materna?

La función principal de los bancos de leche es servir de almacén para la leche donada, de manera que esté disponible cuando se necesite. Los bancos de leche reciben leche de donadoras, la procesan y la almacenan hasta que se usa. La mayor parte de la leche por lo general viene de donadoras múltiples y se conjunta, aunque en algunos bancos se conjunta sólo la leche de donadoras individuales (bancos de donadora única). La leche proporcionada por los bancos de leche suele someterse a pasteurización. Una vez pasteurizada

**Cuadro 2.** Efecto del tipo de envase sobre los constituyentes de la leche (adaptado de Lawrence and Lawrence) [18]

Constituyente	Pyrex	Polipropileno	Bolsas de polietileno	Polietileno (rígido)
Células	se pegan al vidrio	mantienen la fagocitosis		
Vitaminas liposolubles	sin efecto	sin efecto	–	–
Micronutrientes	sin efecto	sin efecto	–	–
IgA secretora	–	–	menor	estable
Dificultad de manejo	–	–	Se derrama con facilidad	
Recomendado para la leche	altamente	no	no	sí

la leche se coloca en pequeños envases (100 – 150 mL) y se almacena congelada hasta por un año, dependiendo de las directrices locales. En EUA, los bancos de leche cobran una cuota de procesamiento para cubrir los costos de recolección y manipulación de la leche. El tipo de envase afecta la estabilidad de los constituyentes de la leche materna, aunque se ha informado que el calostro permanece estable cuando se refrigera durante 24 horas en un envase (Cuadro 2) [5].

### ¿Quiénes son las donadoras de leche?

La mayor parte de la leche es donada por mujeres, que después de amamantar a su lactante durante un tiempo, se dan cuenta de que su producción de leche es suficiente para permitirles donar y al mismo tiempo satisfacer las necesidades de su hijo. En un estudio en Francia [6] se mostró que la típica madre donadora era de edad reproductiva promedio, con fuerte apoyo en casa. Casi la mitad no trabajaba fuera de casa y un gran número era del campo de la salud y servicios sociales. Las razones para la donación eran en gran medida altruistas y en general prevalecía una actitud optimista en las madres.

Para ser elegible como donadora de leche, las mujeres no debían utilizar drogas recreativas ni otros fármacos y su médico, así como el médico de su lactante debían estar de acuerdo con la donación de leche. El banco de leche hacía una historia clínica y tomaba muestra de sangre para pruebas. Por lo general a la madre donadora se le hacen pruebas de VIH-1, VIH-2, virus de leucemia de células T humana 1 y 2, hepatitis B, hepatitis C y sífilis [7]. Si se cumplen todos los requerimientos, se le proporcionan a la donadora los envases para la leche y se le da instrucción acerca de los medios adecuados de extracción de la leche. La donadora obtiene la leche mediante una bomba mecánica o extracción manual y la almacena en el congelador de su casa antes de entregarla al banco de leche. La leche se transporta al banco ya sea por la madre misma o por un servicio de transporte proporcionado por el banco de leche. Es importante que la cadena de enfriamiento nunca se interrumpa, por lo tanto, se utilizan bolsas de enfriamiento especiales o hieleras durante el transporte desde la casa hasta el banco de leche.

La donación de leche es un acto de generosidad. En la mayoría de los países las donadoras no reciben compensa-

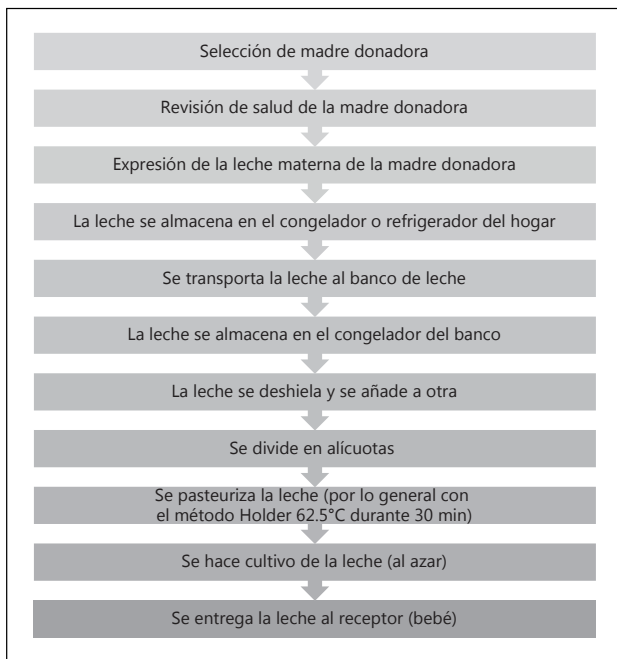
ción, aunque en algunos países reciben una pequeña remuneración monetaria por los costos reales en que se incurrió. Representa más bien un agradecimiento.

### ¿Cómo se maneja la leche en el banco?

Los bancos de leche por lo general siguen procedimientos estandarizados para la recolección y manipulación de la leche donada [7]. El banco instruye a las donadoras acerca de la limpieza recomendada de la mama y los procedimientos de bombeo. El banco proporciona los envases para la leche. A menudo se reúne la leche de varias extracciones. Cada envase debe llevar el nombre, fecha y hora de extracción. La leche permanece en el congelador hasta que se entrega al banco. En la Figura 1 se muestra el proceso del banco de leche.

En el banco, la leche se almacena a -20°C. El día anterior a que se va a procesar, la leche donada se coloca en el refrigerador para que se deshiele durante la noche. El día de la pasteurización, se reúne la leche de 3 a 5 donadoras. Esto sirve para distribuir los nutrientes, como proteína y grasa, así como las sustancias extrañas de manera homogénea. Después de reunirla, se coloca la leche en botellas individuales de 100 mL. La pasteurización se lleva a cabo en un baño de agua a 62.5°C durante 30 min, seguido de un enfriamiento rápido. Las botellas de leche se almacenan a -20°C hasta que se utiliza la leche. Este método (pasteurización Holder) se considera que es un buen arreglo entre la seguridad microbiológica y la calidad nutricional/biológica de la leche de donadora [8]. No obstante, se están buscando métodos que logren menor pérdida de nutrientes y, tal vez, tarden menos tiempo los que serían más deseables [9].

1. La pasteurización a mayor temperatura durante corto tiempo, 72°C durante 5 – 15 segundos, es uno de esos métodos. Logra un mejor arreglo entre seguridad microbiológica y calidad nutricional y biológica de la leche de donadora [10-13]. El método aún no se usa de manera sistemática debido a la falta de instrumentación adecuada.
2. La combinación de ultrasonido y calor (tratamiento termoultrasónico) es una técnica emergente que permite que la leche retenga más de sus componentes bioactivos en comparación con la pasteurización térmica [14]. Sin



**Figura 1.** Gráfica de flujo del proceso de los bancos de leche materna.

embargo, el sistema experimental actual está limitado a volúmenes pequeños y es necesario escalarlo.

3. Procesamiento a presión alta (HPP, *high pressure processing*) parece promisorio como una alternativa para la pasteurización. La inmunorreactividad total de la inmunoglobulina A y la actividad de las lisozimas son significativamente mayores después de HPP en comparación con la pasteurización [15]. Además, la HPP es más rápida y probablemente más barata que la pasteurización Holder. Parece una tecnología promisorio, pero se necesita más investigación antes de usarla de manera rutinaria.
4. Por último, existe el calentamiento óhmico, una nueva tecnología bajo investigación. El tratamiento óhmico es un método de procesamiento en el que el material alimenticio, que sirve como resistencia eléctrica, se calienta mediante el paso de una corriente eléctrica a través de él, lo que provoca un calentamiento rápido y uniforme. Al igual que el procesamiento térmico, el calentamiento óhmico desactiva los microorganismos mediante el calor. Los primeros estudios experimentales no han mostrado modificación del patrón de proteínas de la leche a temperaturas de 72°C y sólo cambios menores a una temperatura de 78°C.

En algunos países, la leche se somete a prueba bacteriológica antes de pasteurizarla, en otros lo hacen después de la pasteurización y en los demás, la leche se somete a prueba antes y después de la pasteurización. En algunos países,

como Noruega, tienen la tradición de alimentar con leche cruda de donadora. En los bancos de leche noruegos, cada envase con leche se somete a prueba bacteriológica. La leche que contiene patógenos o recuentos altos de ( $> 100\,000$  unidades formadoras de colonias/mL) de cualquier bacteria, se destruye. La leche con un recuento bajo de bacterias ( $< 10\,000$  unidades formadoras de colonias/mL) se usa para los bebés prematuros más pequeños [16]. Ronnestad y colaboradores [17] describieron una incidencia de sepsis de inicio tardío, en una cohorte noruega de lactantes con peso al nacer extremadamente bajo que recibieron leche materna cruda o leche de donadora, de 19.8% (80/405), la cual fue similar a la incidencia en la red de calidad Vermont Oxford (21.43% en el año 2000). Por lo tanto, es poco probable que la leche cruda que se sometió a prueba microbiológica sea peligrosa para los infantes prematuros.

### ¿Quiénes reciben la leche de donadora?

Los receptores más frecuentes de leche de donadora son los siguientes [18]:

- Lactantes prematuros, en especial los que tienen un peso al nacer menor de 1 500 g, debido a su alto riesgo de infección y enterocolitis necrosante
- Lactantes con anomalías gastrointestinales que se van a someter a cirugía gastrointestinal que provocará síndrome de intestino corto
- Cuando la madre no es capaz de amamantar a su bebé temporalmente, p. ej., cuando está enferma u hospitalizada
- Cuando se retira la nutrición parenteral
- Trastornos metabólicos, en especial trastornos de los aminoácidos
- Antes de que baje la leche de su propia madre (durante los primeros días después del nacimiento).

Los lactantes prematuros no son sólo el mayor grupo de receptores de leche de donadora, sino que también son los que reciben mayores beneficios de tomar la leche materna. Ésta ejerce efectos tróficos fuertes en el intestino del lactante y con ello los capacita para recibir alimentación enteral completa antes que sin la leche materna [19]. La leche materna protege a los lactantes prematuros fuertemente contra la enterocolitis necrosante [19,20] y contra la sepsis [21], dos padecimientos que conllevan alta mortalidad. Algunas madres rechazan de manera intuitiva el uso de leche de donadora, razón por la cual esta leche se administra sólo después de haber explicado la fuente a la madre y que ella haya dado su consentimiento.

La razón por la que las madres de lactantes prematuros a menudo no son capaces de proporcionar leche o sólo en cantidad insuficiente, es que el parto prematuro, al acortar el embarazo, reduce el periodo de preparación de la lactogénesis. También, la expresión mecánica de la leche es menos efectiva para estimular y mantener la producción de leche que provoca la succión de un lactante maduro.

Se ha sugerido que la disponibilidad de leche de donadora provocaría una falta de incentivación para que las madres proporcionaran leche a sus bebés prematuros. En efecto, existen datos en la literatura que apoyan esta idea [22]. Sin embargo, en un estudio de 1 año en 2010 en el que participaron todas las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN) en Italia, se mostró que la tasa de alimentación al seno materno exclusiva al momento de darlos de alta, fue significativamente más alta en las UCIN con bancos de leche que en las que no tenían bancos de leche (29.6 vs. 16.0%) [23]. Esto confirma los informes anecdóticos de otras áreas. Parece entonces que la disponibilidad de leche de donadora tiene un efecto positivo sobre la motivación de las madres para proporcionar leche a sus bebés.

La leche de donadora también se proporciona a bebés más grandes y a niños con una variedad de problemas médicos, que incluyen una alergia grave a alimentos o intolerancia a la alimentación, falla de crecimiento cuando se alimentan con fórmula, enteritis intratable por rotavirus y durante la quimioterapia por cáncer [24]. En ocasiones, los bebés adoptados reciben leche de donadora. Además, existen varios informes de caso en donde la leche de donadora se utilizó en adultos con padecimientos especiales, p. ej., pacientes con trasplante de hígado con deficiencia de IgA para suministrar IgA extra [25] o en pacientes adultos con cáncer [26].

### La composición de la leche de donadora

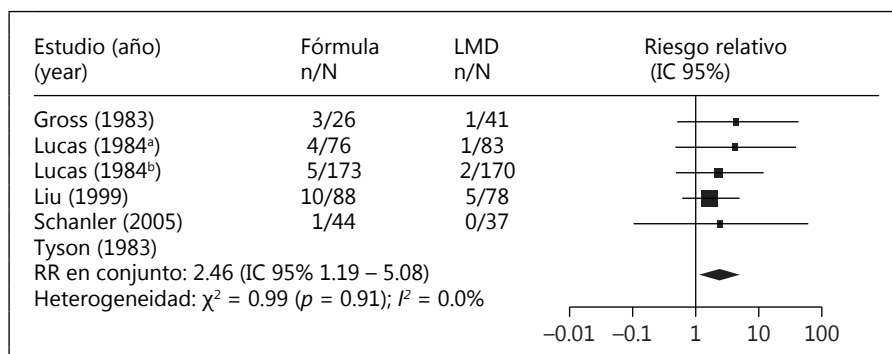
Se aprecia ampliamente que la leche de donadora, en particular el contenido de proteína y lípidos, de las extracciones individuales de leche materna, son muy variables. Esto ha provocado la promoción de analizadores de la leche materna y procedimientos para fortificación de nutrientes de las muestras individuales de leche. Sin embargo, con la leche de donadora la variabilidad de la composición se reduce en gran medida debido a que se reúnen varias muestras. La donadora suele reunir la leche proveniente de varias extracciones antes de llevarla al banco. Una vez ahí se reúne leche proveniente de múltiples donadoras, lo que da como resultado que el contenido de proteína y de lípidos de esta leche sea bastante estable y predecible. Michaelsen y colaboradores [27] informaron que la concentración de grasa y proteína varía ampliamente de una muestra a otra pero que la variabilidad disminuye de manera brusca al reunir las muestras provenientes de múltiples donadoras. En el *Mother's Milk Bank* en Iowa, se analizó el contenido de nutrientes de 37 conjuntos de leche recolectada a lo largo de un periodo de dos años (2003–2005). La concentración (verdadera) de proteína fue en promedio de 8.22 g/L, con una DE de 0.59 g/L y el contenido de grasa promedió 39.0 g/L con una DE de 3.51 g/L. La variabilidad de la composición es por tanto mucho menor que la que se encuentra en las muestras individuales [28]. La variabilidad baja tiene ventajas particulares en

**Cuadro 3.** Efecto de la pasteurización sobre los componentes de la leche (adaptado de Arnold [1])

Componente	Retención
<b>Componentes inmunitarios</b>	
C3 complemento	0%
IgA	0 a 150%
IgG	0 a 82.8%
IgM	0%
Lactoferrina	0 a 123%
Lisozima	0 a 393%
<b>Componentes celulares</b>	
Leucocitos	disminución del número, funcionalidad 0%
Linfocitos	disminución del número, funcionalidad 0%
<b>Enzimas, factores de crecimiento</b>	
α1-antitripsina	61.8%
Lipasa de lipoproteína	destruida por completo
Lipasa estimulada por las sales biliares	destruida por completo
Esterasa	destruida por completo
Factor de transformación del crecimiento α	93.9%
Factor de transformación del crecimiento β <sub>2</sub>	99%
Proporción suero de leche:caseína	Disminución del suero de leche en relación con la grasa
<b>Nutrientes</b>	
Ácidos grasos	94 a 100%
Vitamina A	103%
Ácido fólico	65 a 95%
Vitamina B <sub>1</sub>	65 a 85%
Vitamina B <sub>2</sub>	77 a 94%
Biotina	102 a 110%
Niacina	100 a 106%
Ácido pantoténico	93 a 98%
Vitamina B <sub>6</sub>	85 a 93%
Vitamina C	64 a 94%
Vitamina D	103%
Vitamina E	106%
Zinc	redistribución del patrón del zinc

el caso de los lactantes prematuros debido a que a menudo la variabilidad del contenido de proteína es una fuente de preocupación acerca de ingestas excesivamente altas de proteína. La baja variabilidad en la composición de la leche de donadora tiene la ventaja de que la ingesta de nutrientes del lactante varía muy poco de una alimentación a la otra y es esencialmente conocida siempre, mientras que con la leche de la propia madre el contenido de nutrientes varía bastante entre una comida y otra.

**Figura 2.** Metanálisis de estudios en los que se compararon la alimentación con fórmula *versus* leche de donadora: efecto sobre el riesgo de enterocolitis necrosante. LMD: leche materna de donadora. Adaptado de Chauhan y colaboradores [32], con permiso.



## ¿Es tan buena la leche de donadora como la de la madre?

El hecho de que, con algunas excepciones, la leche de donadora se someta a pasteurización ha provocado ciertas inquietudes en cuanto a que es posible que se pierdan algunos o todos los efectos protectores de la leche materna. Los estudios en los que se evaluaron los componentes antes y después de la pasteurización han comprobado que en efecto, varios componentes importantes de la leche materna se reducen en concentración o se eliminan, como se resume en el Cuadro 3. El tratamiento térmico afecta los componentes antiinfecciosos y celulares, factores de crecimiento y algunos nutrientes, dependiendo del calor y la duración de la exposición. Las enzimas son las más termosensibles, mientras que los componentes inmunitarios se ven comprometidos, pero no se destruyen por completo.

El procesamiento de la leche materna afecta también los ácidos grasos no saturados [29] y daña la membrana de los glóbulos de grasa de la leche [30]. La leche materna contiene células troncales con propiedades multilineales y expresión variable de genes pluripotenciales que se encuentran normalmente en las células madre embrionarias humanas [31]. Es probable que estas células madre se destruyan durante el tratamiento térmico. Por otro lado, algunos componentes protectores importantes como los oligosacáridos son resistentes a los efectos del calor.

Dados estos efectos del procesamiento a alta temperatura, es de esperarse que los efectos protectores de la leche materna disminuyan, pero no desaparezcan por completo. Esto es exactamente lo que muestra la literatura. En cinco estudios en los que se comparó la fórmula con la leche de donadora, con respecto a la incidencia de enterocolitis necrosante, el riesgo de enterocolitis necrosante disminuyó de manera no significativa en cada uno de los estudios. Sin embargo, de manera colectiva, los cinco estudios mostraron un efecto protector importante de la leche de donadora en comparación con la fórmula (Fig 2) [32].

Narayanan y colaboradores [33] hicieron una comparación directa de leche materna fresca contra pasteurizada y demostraron cierta reducción del efecto protector en con-

tra de la infección (14.3 vs. 10.5) la cual aún era más fuerte que el efecto de la fórmula (33.3% de infección). Es por tanto evidente que los efectos benéficos de la leche materna pasteurizada en relación con la leche fresca están disminuidos, aunque se conservan suficientes efectos protectores para que sea la alimentación de elección para los lactantes prematuros en ausencia o ante insuficiencia de leche de su propia madre.

## ¿Es segura la leche de donadora?

Debido al potencial de transmisión de patógenos, en ocasiones existen inquietudes acerca de esta posibilidad. Con los estudios de detección actuales y la pasteurización de la leche de donadora, la posibilidad de transmisión de enfermedad es muy pequeña. En realidad, en las décadas recientes no existe ningún caso documentado de transmisión de enfermedad a través de leche de donadora proveniente de un banco. No se sabe si es posible decir lo mismo acerca de los intercambios informales de leche.

## ¿Es rentable la leche de donadora?

Debido a que los bancos de leche cobran una cuota de procesamiento (\$US 6–7 dólares/100 mL de leche de donadora), se ha preguntado si los beneficios logrados con los lactantes justifican el gasto. Aunque es inadecuado hacer esta pregunta en relación con padecimientos mortales (enterocolitis necrosante, sepsis), por fortuna varios estudios han documentado que el uso de leche de donadora es rentable (costo-efectiva) [34,35]. De ahí que el uso de leche de donadora no sólo salva vidas, sino que también ahorra el dinero del hospital. Se informó que en ocasiones las madres compran leche materna para sus lactantes prematuros o enfermos a través de internet, redes sociales [36], amigos, proveedores privados o en arreglos informales de intercambio. En esos casos, faltan las pruebas de detección de la donadora, el control de calidad de la leche materna y los estándares de envío. Esta conducta es riesgosa y no se recomienda.

Toda la leche de donadora debe fortificarse con nutrientes antes de darla a los lactantes prematuros. En este aspecto, la leche de donadora no difiere de la leche de la propia madre. La mayoría de los fortificantes de la leche materna contienen como

fuerente de proteina diversas fracciones o derivados de leche de vaca. Un fortificante proporciona proteina de la leche materna y se dice que protege mejor en contra de la enterocolitis necrosante que los fortificantes que contienen proteinas de leche bovina, aunque no existe la evidencia para este efecto [37]. La falta de beneficio, por lo tanto, es un argumento en contra del uso de fortificantes a base de leche materna de alto costo.

## Conclusión

Los bancos de leche tienen una función vital al proporcionar leche materna para los lactantes prematuros quienes, por una variedad de razones, de otra manera no tendrían acceso a leche materna. En vista de que la leche materna

confiere efectos protectores importantes, la disponibilidad de leche materna es un tema de relevancia en la atención de calidad. El uso de leche de donadora tiene un amplio apoyo [4, 38, 39].

## Reconocimientos

Los autores agradecen a Gillian Weaver, presidente de la *European Milk Banking Association* (EMBA), por su valiosa contribución.

## Declaración

Los autores declaran que no existe conflicto de interés financiero ni de otro tipo en relación con el contenido de este artículo. La redacción de este artículo la respalda el Nestlé Nutrition Institute.

## Referencias

- 1 Arnold LDW: Human Milk in the NICU: Policy into Practice. Ontario, Jones and Bartlett Publishers, 2010.
- 2 Arslanoglu S, et al; ESPGHAN Committee on Nutrition: Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013;57:535–542.
- 3 The Academy of Breastfeeding Medicine: ABM Clinical Protocol #10: Breastfeeding the late preterm infant (34 0/7 to 36 6/7 weeks gestation) (first revision June 2011). *Breastfeed Med* 2011;6:151–156.
- 4 Eidelman AI, Schanler RJ: Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 2012;129:e827–e841.
- 5 Goldblum RM, et al: Human milk banking. II. Relative stability of immunologic factors in stored colostrum. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:143–144.
- 6 Azema E, Callahan S: Breast milk donors in France: a portrait of the typical donor and the utility of milk banking in the French breastfeeding context. *J Hum Lact* 2003;19:199–202.
- 7 Human Milk Banking Association of North America (HMBANA): Guidelines for the Establishment and Operation of a Donor Human Milk Bank, 2015.
- 8 Moro GE, Arslanoglu S: Heat treatment of human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:165–166.
- 9 Moro GE: V. Processing of donor human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;61(suppl 1):S6–S7.
- 10 Goldblum RM, et al: Rapid high-temperature treatment of human milk. *J Pediatr* 1984;104:380–385.
- 11 Hamprecht K, et al: Cytomegalovirus (CMV) inactivation in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing. *Pediatr Res* 2004;56:529–535.
- 12 Arslanoglu S, et al: Guidelines for the establishment and operation of a donor human milk bank. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010;23(suppl 2):1–20.
- 13 Baro C, et al: Effect of two pasteurization methods on the protein content of human milk. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011;3:818–829.
- 14 Czank C, Simmer K, Hartmann PE: Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: effect on milk quality. *J Dairy Res* 2010;77:183–189.
- 15 Permanyer M, et al: Maintenance of breast milk Immunoglobulin A after high-pressure processing. *J Dairy Sci* 2010;93:877–883.
- 16 Grøvslien AH, Grønn M: Donor milk banking and breastfeeding in Norway. *J Hum Lact* 2009;25:206–210.
- 17 Ronnestad A, et al: Late-onset septicemia in a Norwegian national cohort of extremely premature infants receiving very early full human milk feeding. *Pediatrics* 2005;115:e269–e276.
- 18 Lawrence RA, Lawrence RM: Breastfeeding: A Guide for the Medical Profession, ed 7. Missouri, Elsevier, 2010.
- 19 Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C: Feeding strategies for premature infants: beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula. *Pediatrics* 1999;103:1150–1157.
- 20 Meinzen-Derr J, et al: Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol* 2009;29:57–62.
- 21 Patel AL, et al: Impact of early human milk on sepsis and health-care costs in very low birth weight infants. *J Perinatol* 2013;33:514–519.
- 22 Davanzo R, et al: Breastfeeding at NICU discharge: a multicenter Italian study. *J Hum Lact* 2013;29:374–380.
- 23 Arslanoglu S, et al: Presence of human milk bank is associated with elevated rate of exclusive breastfeeding in VLBW infants. *J Perinat Med* 2013;41:129–131.
- 24 Tully MR: A year of remarkable growth for donor milk banking in North America. *J Hum Lact* 2000;16:235–236.
- 25 Merhav HJ, et al: Treatment of IgA deficiency in liver transplant recipients with human breast milk. *Transpl Int* 1995;8:327–329.
- 26 Rough SM, et al: Qualitative analysis of cancer patients' experiences using donated human milk. *J Hum Lact* 2009;25:211–219.
- 27 Michaelsen KF, et al: Variation in macronutrients in human bank milk: influencing factors and implications for human milk banking. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;11:229–239.
- 28 Cooper AR, et al: Macronutrient content of donor human breast milk. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013;98:F539–F541.
- 29 Lavine M, Clark RM: Changing patterns of free fatty acids in breast milk during storage. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987;6:769–774.
- 30 Schmidt E: Effects of varying degrees of heat treatment on milk protein and its nutritional consequences. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1982;296:41–43.
- 31 Hassiotou F, Geddes DT, Hartmann PE: Cells in human milk: state of the science. *J Hum Lact* 2013;29:171–182.
- 32 Chauhan M, Henderson G, McGuire W: Enteral feeding for very low birth weight infants: reducing the risk of necrotizing enterocolitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008; 93:F162–F166.

- 33 Narayanan I, et al: A planned prospective evaluation of the anti-infective property of varying quantities of expressed human milk. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:441–445.
- 34 Arnold LD: The cost-effectiveness of using banked donor milk in the neonatal intensive care unit: prevention of necrotizing enterocolitis. *J Hum Lact* 2002;18:172–177.
- 35 Carroll K, Herrmann KR: The cost of using donor human milk in the NICU to achieve exclusively human milk feeding through 32 weeks postmenstrual age. *Breastfeed Med* 2013;8:286–290.
- 36 Gribble KD: Peer-to-peer milk donors' and recipients' experiences and perceptions of donor milk banks. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2013;42:451–461.
- 37 Sullivan S, et al: An exclusively human milk-based diet is associated with a lower rate of necrotizing enterocolitis than a diet of human milk and bovine milk-based products. *J Pediatr* 2010;156:562–567.e1.
- 38 Arslanoglu S, et al: Donor human milk in preterm infant feeding: evidence and recommendations. *J Perinat Med* 2010;38:347–351.
- 39 Moro GE, et al: XII. Human milk in feeding premature infants: consensus statement. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;61(suppl 1):S16–S19.





## Hallazgos recientes sobre proteínas nutritivas y bioactivas en la leche materna apoyan las recomendaciones de la OMS de que la lactancia materna debe continuar durante el primer año y más allá

Reimpreso con el permiso de: *Ann Nutr Metab* 2016; 69 (suppl 2): 17-26

### Proteínas nutricionales y bioactivas en la leche materna

Por Ferdinand Haschke et al.

#### Puntos clave

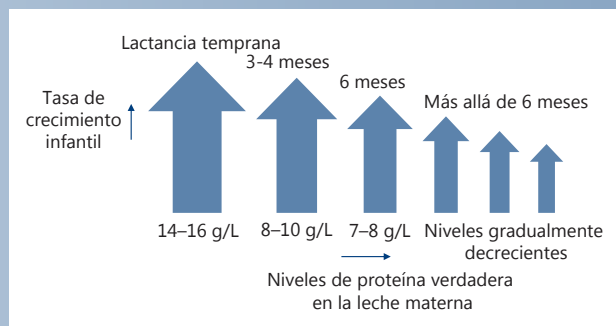
La ingesta proteica de lactantes a término con lactancia materna se ha utilizado como base para estimar las necesidades de proteínas de un bebé durante el primer año. La ganancia diaria de proteína es más alta en el lactante muy joven y disminuye rápidamente en la infancia tardía y en el segundo año de vida. El contenido de proteínas de la leche materna evoluciona dependiendo de la etapa de lactancia y del tiempo transcurrido desde el parto. De hecho, la concentración de proteínas en la leche materna es alta durante las primeras semanas de lactancia y disminuye gradualmente durante el primer año. La cantidad y calidad de la leche materna es fundamental para apoyar el crecimiento del lactante y el desarrollo a largo plazo.

#### Conocimiento actual

Las proteínas son los terceros sólidos más abundantes encontrados en la leche materna. La variedad de funciones que desempeñan las proteínas y péptidos bioactivos en la leche materna arroja luz sobre por qué los lactantes amamantados tienen menor morbilidad y menos infecciones. La lactoferrina, la IgA secretora, la osteopontina y diversas citocinas modulan el sistema inmune del lactante junto con la lisozima, la  $\kappa$ -caseína y la lactoperoxidasa, que tienen funciones antibacterianas. Otras proteínas regulan el desarrollo intestinal y ayudan en la absorción de nutrientes clave.

#### Implicaciones prácticas

Con base en nuestra mejor comprensión de la evolución de la proteína en la leche materna a lo largo de las etapas de la lactancia, se han desarrollado, probado y puesto a disposición en muchos países nuevas fórmulas infantiles con menor concentración pero con mejor calidad de proteínas.



La concentración de proteína de la leche materna evoluciona con el crecimiento del bebé.

Los recién nacidos de bajo peso al nacer tienen mayores requerimientos de proteínas que los recién nacidos a término debido a su mayor ganancia diaria de proteína por unidad de peso corporal. Las concentraciones de proteína y aminoácidos en la leche materna de las madres que tuvieron partos prematuros son mayores durante las primeras semanas de lactancia comparadas con las de las madres que tienen partos a término. La suplementación de la leche materna es necesaria para satisfacer los altos requerimientos de proteínas de los lactantes con muy bajo y extremadamente bajo peso al nacer.

#### Lectura recomendada

Lønnerdal B, Erdmann P, Thakkar SK, Sauser J, Destaillass F: Longitudinal evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: a developmental perspective. *J Nutr Biochem* 2016;41:1-11.

# Proteínas nutritivas y bioactivas en la leche materna

Ferdinand Haschke<sup>a</sup> Nadja Haiden<sup>b</sup> Sagar K. Thakkar<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Pediatría, Paracelsus Medical University, Salzburg, y <sup>b</sup> Departamento de Pediatría, Medical University Vienna, Viena, Austria; <sup>c</sup> Nestlé Research Center, Lausana, Suiza

## Mensajes clave

- Se utilizó la ingesta de proteínas de los lactantes de término alimentados al seno materno, como modelo para calcular los requerimientos de proteína durante el primer año de vida. Son más altos durante los primeros meses, cuando el aumento diario de peso es rápido y menores durante la infancia tardía, cuando el aumento diario de peso se hace más lento.
- La leche materna contiene una multitud de proteínas bioactivas en altas concentraciones durante el inicio de la lactancia y disminuyen conforme progresa la lactancia.
- La cantidad y calidad de la proteína en la leche materna son cruciales para el crecimiento sano y el desarrollo a largo plazo.

## Palabras clave

Requerimientos de proteínas para el crecimiento · Proteínas nutritivas · Proteínas bioactivas · Péptidos bioactivos · Lactantes · Leche materna · Lactoferrina · Inmunoglobulinas

## Resumen

La proteína ingerida con la leche materna proporciona aminoácidos esenciales que son necesarios para la síntesis de proteína nueva para el crecimiento y reemplazo de las pérdidas en orina, heces y piel. La ganancia de proteína en el cuerpo de un lactante es la más alta durante los prime-

ros meses de vida, cuando las concentraciones de proteína en la leche materna son más altas que durante las etapas tardías de la lactancia. Los lactantes con bajo peso al nacer tienen necesidades más altas de proteínas que los lactantes de término y necesitan complementos de proteína durante la alimentación con leche materna. Con base en nuestra mejor comprensión de la evolución de la proteína en la leche materna durante las etapas de la lactancia, se han creado nuevas fórmulas infantiles con menor concentración de proteína, pero de mejor calidad, se probaron con éxito y ahora están disponibles en muchos países. Aparte de proporcionar los aminoácidos indispensables, la proteína bioactiva de la leche materna se clasifica en cuatro funciones principales, es decir, proporcionar protección de las agresiones microbianas y protección inmunitaria, ayudar a las funciones digestivas, desarrollo intestinal y ser transportadoras para otros nutrientes. Las proteínas individuales y sus bioactividades propuestas se resumen en este artículo. En efecto, ciertas proteínas como la lactoferrina y la sIgA se han estudiado ampliamente por sus funciones biológicas, mientras que otras tal vez requieran de más datos de apoyo para validar sus funciones propuestas.

© 2017 Nestec Ltd., Vevey/ S. Karger AG, Basilea

## Introducción

La alimentación al seno materno es importante para el crecimiento y desarrollo saludable de los lactantes y niños pequeños. La OMS recomienda alimentación al seno materno exclusiva hasta los 6 meses y continuarla hasta los 2 años como parte de una dieta mixta. Sin embargo, encuestas recientes

**Cuadro 1.** Funciones bioactivas de las proteínas de la leche materna

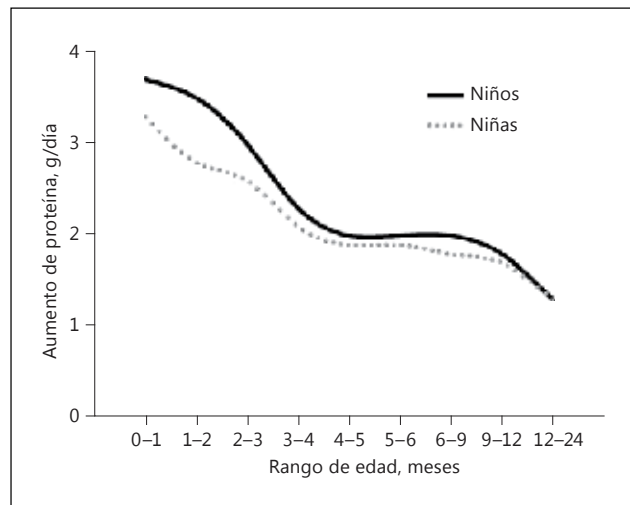
Función	Bioactividad	Referencias
Inmunomodulación y actividad antimicrobiana	Lactoferrina	29, 30, 113
	IgA Secretora	36, 114
	Osteopontina	38, 43
	Citocinas	53, 54
	Lisozima	57
	$\kappa$ -Caseína	59
	Lactoperoxidasa	61, 62
	Haptocorrina	64
	$\alpha$ -Lactalbúmina	70
Función digestiva	Lipasa estimulada por sales biliares	79
	Amilasa	81
	$\alpha$ 1-antitripsina	86
Desarrollo intestinal	Factores de crecimiento	91
	Lactoferrina	94
Transportadores de otros nutrientes	Lactoferrina	96
	Haptocorrina	99
	Proteína fijadora de folato	105, 106
	$\alpha$ -Lactoalbúmina	107
	$\beta$ -Caseína	111, 112

DHS indican que aún en los países en desarrollo, sólo 32% de las madres alimentan al seno materno de manera exclusiva a sus bebés hasta los 6 meses [1], y la calidad de los alimentos complementarios es muy baja. Por lo tanto, en muchos países en desarrollo, el retraso del crecimiento sigue siendo prevalente en cerca de 20% de los niños menores de 5 años de edad [2]. En la mayoría de los países industrializados, se introducen los sólidos entre los 4 y 6 meses de edad y la lactancia se suspende a menudo mucho antes de lo recomendado.

Después de los hidratos de carbono y lípidos, las proteínas son los sólidos más abundantes en la leche materna (LM), que no sólo proporcionan los aminoácidos indispensables para el crecimiento sino también las proteínas bioactivas y péptidos esenciales para muchas funciones (Cuadro 1).

### Requerimientos de proteína para el crecimiento

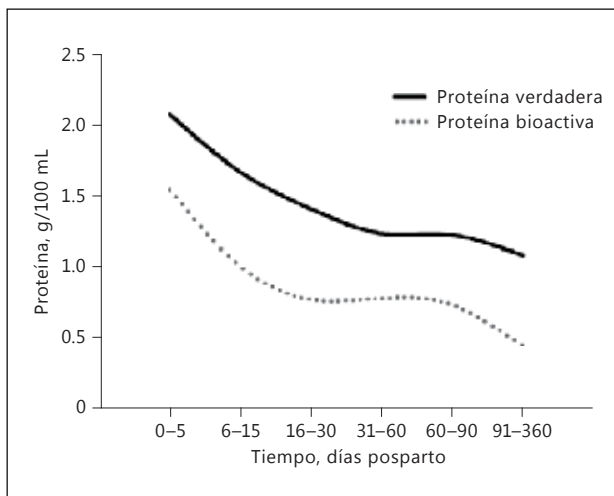
La ingesta de proteína de los lactantes de término alimentados al seno materno se ha utilizado como un modelo para calcular los requerimientos durante el primer año [3,4]. El contenido de proteína en la LM se cuantifica mediante la evaluación directa del contenido verdadero de proteína [5]. Se ha informado de concentraciones verdaderas de proteína de 14 a 16, 8 a 10 y 7 a 8 g/L durante la lactancia temprana, a los 3 a 4 meses y a los 6 meses, respectivamente. En un meta-análisis reciente, de 43 estudios [5] se confirma que la concentración de proteína en la LM depende de la etapa de lactancia y el tiempo desde el parto. Indica también una gran variedad en la concentración de proteína, en particular durante los



**Figura 1.** Aumento de proteínas diarias de los niños y niñas de 0 a 24 meses de edad. El aumento se basó en las mediciones de potasio corporal total [7].

primeros meses de lactancia. Sin embargo, la verdadera ingesta de proteína no refleja de manera precisa la cantidad de aminoácidos utilizables para sintetizar nueva proteína corporal porque algunas proteínas de la LM (bioactivas) pueden encontrarse intactas en las heces del lactante [6].

Los requerimientos de proteína para el crecimiento y el recambio diario dependen fuertemente en las tasas de aumento de proteína corporal. La retención diaria de proteína en el cuerpo se calcula mediante la medición de absorción y excreción. Fomon y colaboradores [7] publicaron cálculos detallados de aumento de proteína en niños durante los primeros 2 años de vida y más allá. Con base en el agua corporal total (calculando el compartimento intracelular y el extracelular), el potasio corporal total (calculando el compartimento intracelular en donde casi toda la proteína está presente), y el calcio corporal total (minerales óseos), se calcularon todos los componentes de la masa magra. Debido a que el potasio es el principal catión intracelular, los aumentos en diferentes rangos de edad permiten calcular el aumento de proteína corporal total (Figura 1). El aumento diario de proteína es más alto en el lactante pequeño y disminuye con rapidez durante la infancia tardía y el segundo año de vida: durante los primeros meses, el aumento de proteína es tres veces mayor que entre los 12 y 24 meses. En efecto, la concentración de proteína en la LM es alta durante las primeras semanas y después continúa disminuyendo durante el primer año, pero en velocidades sustancialmente menores que las observadas en las primeras semanas (Figura 2). La caseína y la mayor parte de las proteínas del suero de leche en la LM se utilizan en el crecimiento. Sus concentraciones cambian profundamente a lo largo de la lactancia: durante las primeras 2 semanas de



**Figura 2.** La evolución de la proteína verdadera (línea gruesa) y la proteína bioactiva (línea punteada; suma de lactoferrina,  $\alpha$ -lactoalbúmina, albúmina sérica, sIgA, IgG, IgM, lisozima, proteínas bioactivas bien catalogadas) de la leche materna dentro del primer año de vida posparto. Basado en datos de Lönnnerdal y colaboradores [5].

lactancia, las concentraciones de las proteínas del suero de leche son muy altas, mientras que las concentraciones de caseína son bajas, lo cual da como resultado una proporción suero:caseína hasta de 80:20. La proporción cae hasta 65:35 para la segunda semana y permanece constante en alrededor de 60:40 de ahí en adelante [5].

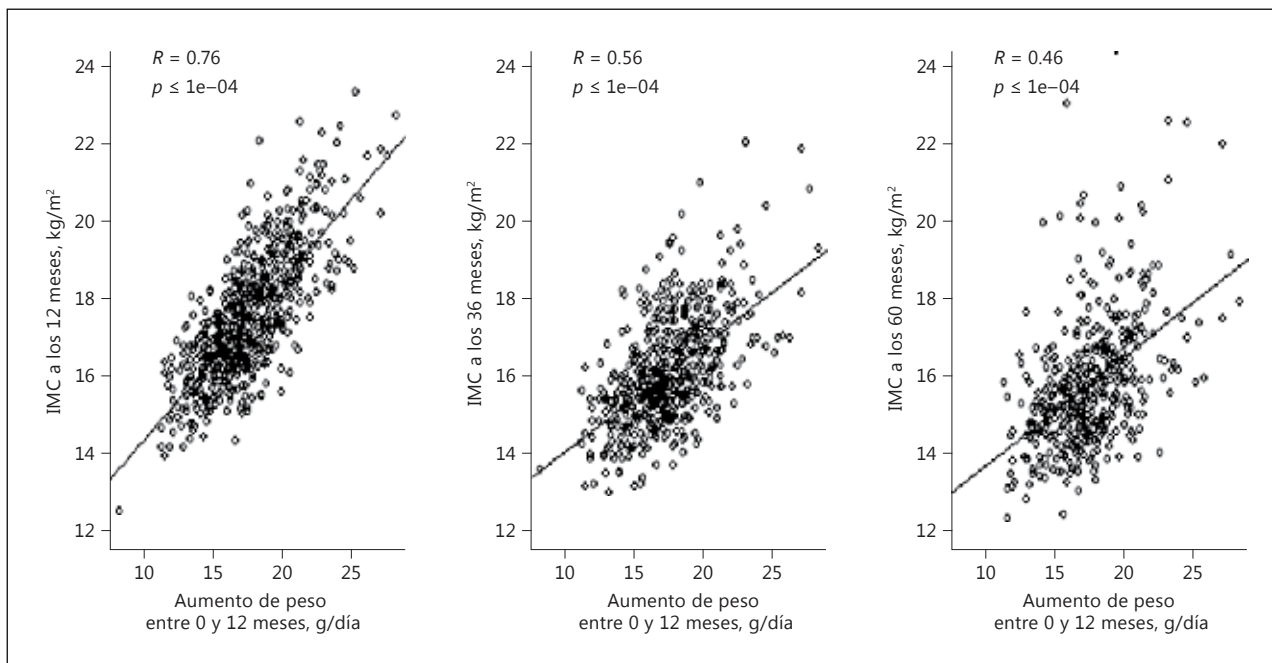
Las proteínas son cadenas poliméricas hechas de aminoácidos unidos por uniones peptídicas. Durante el proceso de digestión, la mayoría de las proteínas se descompone a aminoácidos simples o pequeños péptidos que se absorben. Los aminoácidos que se absorben y no se oxidan son los ladrillos de la nueva proteína la cual se sintetiza en el cuerpo. A pesar de la reducción en la proteína a lo largo del tiempo, el valor nutritivo de la proteína de la LM, medida mediante el cociente de aminoácidos esenciales totales a aminoácidos totales, parece ser constante a lo largo del tiempo. Estos cambios se correlacionan bien con las necesidades en evolución del lactante en crecimiento [8].

Debido a su mayor aumento diario de proteína por unidad de peso corporal, los bebés con bajo peso al nacer tienen requerimientos mayores de proteínas que los de término [9, 10]. Las concentraciones de proteína y aminoácidos durante las primeras semanas de lactancia son mayores en la LM de madres que tienen partos prematuros que en la LM de madres que dan a luz al término [8]. Sin embargo, alimentar con LM sin complementos no satisface los requerimientos de proteína, en particular en los lactantes de muy bajo peso y peso extremadamente bajo. Los suplementos que están en el mercado están constituidos con base en fracciones de

proteína de leche de vaca o de leche materna de donadora. La suplementación de la LM o el uso de fórmulas para prematuros mejora las tasas de crecimiento de los lactantes de bajo peso al nacer, aunque no se sabe con seguridad si ya se encontró la mezcla correcta de aminoácidos indispensables para la síntesis de proteína corporal nueva, en los lactantes con bajo peso al nacer.

Desde hace más de dos décadas se han mostrado las diferencias en el crecimiento entre los lactantes alimentados al seno materno y los lactantes alimentados con fórmulas de alto contenido proteínico (es decir, > 2.25 g/100 kcal) [11]. Los lactantes alimentados con fórmula de alto contenido proteínico crecen más rápido durante los primeros 2 años y más allá [12], y tienen concentraciones sanguíneas más altas de insulina y del factor 1 de crecimiento semejante a la insulina [13, 14]. El crecimiento rápido durante el primer año se relaciona con obesidad durante la niñez. Tres estudios longitudinales confirmaron una relación fuerte entre el aumento de peso entre los 0 y 12 meses y el índice de masa corporal (IMC) a los 12, 36 y 60 meses (Figura 3)[10]: 21% de la varianza del IMC a los 60 meses se explica por el aumento de peso entre el nacimiento y los 12 meses. Para reducir la brecha proteínica entre la LM y la fórmula infantil se requiere una profunda comprensión de la forma en que cambia la calidad y cantidad de la LM a lo largo del tiempo. La composición de las fórmulas infantiles ha evolucionado con el creciente conocimiento de la LM. En fechas recientes se publicó un análisis agrupado de datos individuales de crecimiento (11 estudios clínicos;  $n = 1\ 882$ ) [15] de lactantes que recibieron una fórmula inicial modificada a base de suero de leche, con bajo contenido proteínico (1.8 g proteína/100 kcal) [16] con un perfil de aminoácidos cercano a la LM [17] de término. El peso y estatura de los lactantes alimentados con la fórmula a los 4 meses corresponde al percentil 50 del estándar de crecimiento global de la OMS [18]. El estudio CHOP en Europa siguió el crecimiento de los niños que habían sido alimentados con fórmulas de bajo y alto contenido de proteínas durante el primer año de vida. A los 6 años, el IMC y el porcentaje de niños con obesidad fue significativamente menor en el grupo de fórmula de bajo contenido de proteínas [12]. En dos ensayos controlados aleatorizados [19, 20] se pusieron a prueba dos fórmulas de seguimiento con bajo contenido proteínico (1.6 g de proteína/100 kcal) y se dio seguimiento a los niños hasta los 5 años de edad. El IMC a los 5 años, de los niños alimentados con la proteína de bajo contenido proteínico fue similar al de los niños alimentados exclusivamente al seno materno hasta los 4 a 6 meses [10].

Por lo tanto, parece que la cantidad y calidad de la proteína de la LM son cruciales para el crecimiento saludable y el desarrollo a largo plazo. Es posible que algunas proteínas nutritivas que se absorben bien o en parte, tengan también funciones biológicas. Además, existen proteínas bioactivas en la LM que no se absorben. Funciones específicas de pro-



**Figura 3.** El aumento de peso entre el nacimiento y los 12 meses pronostica el IMC a los 12, 36 y 60 meses. Datos provenientes de tres estudios longitudinales (Italia, EUA, Chile).[10]

teínas bioactivas y péptidos que se han estudiado en detalle proporcionan conocimiento sobre las razones por las que los lactantes alimentados al seno materno tienen una morbilidad menor y periodos de infección más cortos [21], así como diferente microbiota [22].

### Proteínas bioactivas (funcionales) en la LM

#### Actividad inmunomoduladora y antimicrobiana

##### Lactoferrina

La lactoferrina, también conocida como lactotransferrina, se informó que estaba presente en la leche de bovino a finales de la década de 1930, y se cuantificó en la LM a principios de la década de 1960 [23]. Se describió originalmente como “la proteína roja de la leche (de bovino)”, resultó ser una glucoproteína globular multifuncional [24, 25]. El contenido de lactoferrina en la LM disminuye con la progresión de las etapas de la lactancia, se encuentra en mayor cantidad en el calostro con 5.5 g/L y entre 1.5 y 3.0 g/L en la leche madura, dependiendo de la etapa de la lactancia [26]. Se acepta, por lo general, que la lactoferrina resiste la digestión, hasta cierto grado, y por lo tanto es posible encontrarla intacta en las heces del lactante. Sin embargo, al principio de la vida, es posible que una fracción de esta proteína la capte la mucosa intestinal y el resto se digiera para producir péptidos bioactivos [27]. Debido a esta alta afinidad por el hierro férrico, no sólo actúa como transportador de hierro en la LM, sino que también a algunos microbios nocivos los priva del hierro

que es clave para su crecimiento. Además, debido a su dominio N-terminal básico que interactúa con diversos blancos microbianos y del huésped, la lactoferrina no sólo tiene propiedades antimicrobianas, sino que también modula las respuestas inmunitarias innatas y las de adaptación. Esto lo orquestan las citocinas interleucina (IL)-4, IL-2, IL-12 y el interferón- $\gamma$  y da como resultado su capacidad de actuar como agente antiinflamatorio o proinflamatorio. Se ha demostrado que la lactoferrina compite con lipopolisacáridos para unirse con CD14 y con ello evitar la serie de eventos proinflamatorios mediados por los lipopolisacáridos [28]. Aunque esta molécula es resistente a la digestión y en ocasiones se encuentra intacta en la materia fecal, se digiere en cierto grado para formar lactoferricina, una molécula que es capaz de inhibir la fijación de *Escherichia coli* a las células intestinales [29, 30]. La lactoferricina no es la única lactoferrina relacionada con péptido que tiene actividad antimicrobiana, el papel de Lf(1-11) y la lactoferrampina ha surgido también en fechas recientes [31]. En un estudio se demostró que Lf(1-11) es activa contra bacterias grampositivas (*Staphylococcus* spp. y *Streptococcus mitis*) así como bacterias gramnegativas (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. y *E. coli*) [32].

##### Inmunoglobulina secretora A

La leche materna es rica en inmunoglobulina secretora A (sIgA, *secretory immunoglobulin A*) en especial durante las primeras etapas de la lactancia. El calostro muestra una

amplia variabilidad de una madre a otra y llega a contener en promedio 2.0 g/L de sIgA, el cual se reduce aproximadamente a 0.5 g/L en la leche madura. [33] El destino de absorción de esta proteína es similar al de la lactoferrina en que es, en parte, excretada intacta y parte es digerida para péptidos bioactivos [27]. Se ha documentado que esta clase de anticuerpo es abundante en la mucosa intestinal de los humanos y otros mamíferos y que protege el epitelio de las agresiones tóxicas. Como primera línea de defensa, en la inhibición de infecciones incidentes, sIgA bloquearía la toxina que se adhiere al epitelio intestinal. En los modelos murinos expuestos a la toxina de *Vibrio cholerae*, sIgA demostró un efecto protector [34]. Otro mecanismo por medio del cual la sIgA bloquearía patógenos es mediante el reconocimiento directo de los dominios de fijación al receptor como el reovirus tipo 1 Lang. Cuando los ratones *knockout* IgA fueron sometidos a prueba de provocación con reovirus, el alimento administrado mediante sonda del grupo IgA de los ratones *knockout* fue tan efectivo como los ratones naturales en cuanto a la eliminación de la infección [35]. La sIgA tal vez tenga también un efecto directo sobre la virulencia de la bacteria. Por ejemplo, la *Shigella flexneri* que se fija a la IgA monoclonal murina suprimió la actividad de la secreción bacteriana tipo 3 (T3S), que es necesaria para que *S. flexneri* tenga acceso al epitelio intestinal [36]. La exclusión inmunitaria a menudo se denomina capacidad de la sIgA de prevenir el acceso del patógeno al epitelio intestinal a través de una serie de procesos que comprenden aglutinación, atrapamiento en moco y eliminación a través de movimientos peristálticos [37].

#### Osteopontina

La osteopontina es una proteína ácida fosforilada y altamente glucosilada con posibles papeles en la activación inmunitaria, inhibición de la calcificación ectópica, adhesión y migración celular, angiogénesis y remodelación ósea [38]. Con una alta variabilidad entre poblaciones y etapas de la lactancia, la concentración promedio de osteopontina en la LM es aproximadamente de 140 mg/L [39]. Cuando se compara con ratones lactantes naturales, los ratones *knockout* lactantes de osteopontina sufrieron periodos prolongados de brotes intensos de diarrea cuando se expusieron a rotavirus [40]. Se requiere de un equilibrio fino entre la célula T 1 auxiliar (Th 1, *T helper 1*) y la T auxiliar 2 (Th 2) para aliviar una respuesta inmunitaria. Se ha demostrado que la osteopontina induce la expresión de Th 1 e inhibe la Th 2 junto con IL-10 [38]. Es interesante que los lactantes alimentados al seno materno mostraron inducción de la respuesta Th 1 cuando se inmunizaron contra sarampión, paperas y rubéola, mas no fue así en los alimentados con fórmula [41]. Esta observación puede presumiblemente estar ligada a la presencia de osteopontina en LM del grupo alimentado con leche

materna, pero no del grupo alimentado con fórmula. Además, a través de interacciones electrostáticas, la osteopontina forma complejos con la lactoferrina y de esta forma actúa como transportadora de otras proteínas inmunomoduladoras para aumentar la competencia inmunitaria de sus consumidores [42]. En fechas recientes, se llevó a cabo un ensayo controlado aleatorizado en donde se reclutaron dos grupos de lactantes alimentados con fórmula y un grupo alimentado al seno materno. A los dos grupos alimentados con fórmula se les dio una fórmula estándar con 65 mg/L de osteopontina derivada de bovino o una fórmula experimental que contenía 130 mg/L de osteopontina derivada de bovino. Aparte de los parámetros de crecimiento comparables, se observaron diferencias en menores concentraciones de la citocina proinflamatoria, TNF- $\alpha$ , y un número significativamente menor de días cuando los lactantes tuvieron fiebre [43].

#### Citocinas

El efecto de las citocinas para regular los procesos inflamatorios relacionados a menudo con infección suele ser como una orquesta, que operan en redes y producen efectos en cascada. Se postula que las citocinas aumentan la proliferación de los timocitos, inhiben la producción de IL-2 de las células T y suprimen la producción de IgE [44-46]. A lo largo de los años se ha demostrado la presencia de varias citocinas en la LM. Estas moléculas incluyen, mas no se limitan a, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , interferón- $\gamma$ , factor de crecimiento transformante  $\beta$  y factor estimulante de colonias. [47-52] Por lo general están presentes en concentraciones muy bajas (picogramos) y es posible que se originen a partir de las células glandulares mamarias epiteliales, o de macrófagos activados y otras células en la LM [53]. La función biológica de estos agentes, en los lactantes, es complementar su fuente propia de citocinas, que se producen en menores cantidades debido a la inmadurez del sistema inmunitario. Aunque las citocinas no están bien estudiadas como otros agentes inmunomoduladores que se describen en esta sección, se postula que estas moléculas equilibran las Th1 y Th2 para impartir beneficios relacionados con la inmunidad [54].

#### Lisozima

La lisozima pertenece a la fracción de proteína de la clase del suero de la leche en la LM y posee propiedades bactericidas al afectar la pared celular de la mayoría de las bacterias grampositivas y algunas gramnegativas. Se han observado cantidades mayores de lisozima en el calostro, con aproximadamente 0.36 g/L que se reduce un poco en la leche madura hasta 0.30 g/L. [55] Se ha intentado producir lisozima humana recombinante y lactoferrina en ganado productor de leche [56]. Aún no está del todo claro el mecanismo, pero la lisozima que se origina en la LM contiene también actividad en contra del VIH tipo 1 [57].

### $\kappa$ -Caseína

La  $\kappa$ -Caseína pertenece a la familia de fosforoproteínas que participan en varios procesos fisiológicos. Con una concentración promedio de aproximadamente 1.25 g/L en el calostro y leche de transición, se estabiliza cerca de 1 g/L en la leche madura [58]. Estas  $\kappa$ -Caseína glucosiladas de origen humano, a diferencia de las de origen bovino, inhiben la adhesión específica del linaje celular de *Helicobacter pylori* a las células mucosas de la superficie de gástrica humana [59].

### Lactoperoxidasa

La lactoperoxidasa, miembro de la familia de peroxidasa heme, se secreta por las glándulas mamarias y está presente de manera persistente durante la lactancia. En la leche materna, la lactoperoxidasa se encuentra en 1 a 15 unidades/mL durante los primeros 6 meses de la lactancia [60]. Está bien aceptado que esta peroxidasa cataliza la oxidación del tiocianato, proveniente de la saliva de los lactantes, a hipotiocianato, en presencia de pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno que ya está en la boca del bebé. El hipotiocianato que se forma es tal vez el responsable de exterminar las bacterias grampositivas y gramnegativas [61,62].

### Haptocorrina

La haptocorrina es una proteína fijadora de vitamina B<sub>12</sub> que se encuentra en muchos líquidos corporales que incluyen la LM con un rango de concentración de cerca de 5 mcg/mL en el calostro, hasta 3 mcg/mL en la leche madura [63]. Estructuralmente, la haptocorrina no mostró mucha alteración después de exponerla a enzimas digestivas y fue capaz de inhibir el crecimiento de *E. coli* en un sistema *in vitro* [64]. En un estudio sistemático posterior, de exposición de la haptocorrina a 34 bacterias comensales y patógenas, se indicó supresión sólo de la *Bifidobacterium breve*, con lo que se implicó su papel que es posible que esté limitado a ciertas cepas y tal vez no sea relevante una etiqueta de frazada antimicrobiana para esta proteína en la que se justifican más estudios [65].

### $\alpha$ -Lactoalbúmina

Una proteína bien caracterizada y primaria en la LM, la  $\alpha$ -lactoalbúmina está constituida por 123 aminoácidos y 4 puentes disulfuro y constituye 20 a 25% de las proteínas totales de la LM [66, 67]. En vista de que es también una fuente rica de muchos aminoácidos indispensables, una fracción de la proteína se digiere bien y el resto provee de polipéptidos que ejercen actividades antimicrobianas sobre todo contra bacterias grampositivas y no las gramnegativas

[68, 69]. Además, se encontró que una variante plegable de la  $\alpha$ -lactoalbúmina es bactericida contra una cepa resistente a antibióticos de *Streptococcus pneumonia* [70]. No sólo por sus beneficios antibacterianos, sino también para imitar de manera más cercana a la LM para obtener beneficios adicionales, se hacen grandes esfuerzos por enriquecer LM sustituta con  $\alpha$ -lactoalbúmina [71].

### Funciones digestivas

Lipasa estimulada por las sales biliares

La principal fuente de energía para los lactantes alimentados al seno materno es el lípido predominante en la LM, los triacilglicérols. Los triacilglicérols de la leche se digieren mediante acciones complementarias de la lipasa gástrica, la lipasa pancreática dependiente de la colipasa y la lipasa estimulada por las sales biliares (BSSL, *bile salt-stimulated lipase*). Aunque existen dos fuentes de estas enzimas, el páncreas exocrino del lactante, la principal fuente es la BSSL de la leche materna. A principios de la década de 1950, Freudenberg demostró por primera vez que la leche materna

contiene una lipasa inactiva que se estimula cuando el quimo llega al duodeno y se pone en contacto con las sales biliares [72, 73]. A principio de la década de 1980 se purificó y caracterizó la BSSL [74], se demostró que tiene una especificidad de sustrato amplia [75-77] y que se desactiva mediante la pasteurización de la

LM [78]. Por lo tanto, la digestión y absorción de lípidos es mucho menor cuando se alimenta con leche pasteurizada de donadora a los lactantes prematuros [79]. En un estudio reciente, de fase 3, con asignación aleatoria, se agregó BSSL humana recombinante a la fórmula infantil para evaluar si tenía algún impacto sobre la velocidad de crecimiento, que se presume se debe a una mejor digestión y absorción de lípidos. Es interesante que no se observaron beneficios sobre el crecimiento en los lactantes prematuros adecuados para la edad gestacional, pero que sí se presentaron en los lactantes prematuros pequeños para la edad gestacional [80].

### Amilasa

En ausencia de amilasa pancreática, la amilasa de la LM cataliza la hidrólisis del almidón, glucógeno y otros sacáridos relacionados mediante la escisión de las uniones  $\alpha$ -1,4 para producir maltosa, dextrinas y glucosa. La actividad de la amilasa varía desde 1 000 hasta 5 000 unidades por litro de LM [81]. Se sabe que el calostro contiene actividad mayor en comparación con la leche de transición y la madura

**No sólo por sus beneficios  
antibacterianos, sino también para  
imitar de manera más cercana a la LM  
para obtener beneficios adicionales, se  
hacen grandes esfuerzos por enriquecer  
LM sustituta con  $\alpha$ -lactoalbúmina.**

[82]. Existe una disminución adicional de aproximadamente 35% de la actividad después del primer trimestre de lactancia [83]. Además, con una mayor paridad se reduce también la actividad de la amilasa a la mitad [83]. La leche prematura contiene cantidades iguales de actividad de amilasa que la leche de término [84]. Aparte de su papel obvio en ayudar a la digestión, la amilasa actúa también como antibacteriano al atacar los polisacáridos de la pared celular bacteriana [82].

#### $\alpha$ 1- antitripsina

No se comprende del todo el papel fisiológico de los inhibidores de la proteasa como la  $\alpha$ 1- antitripsina (A1AT) en la LM. Sin embargo, como se acepta en general para otros mamíferos, los inhibidores de la proteasa desempeñan un papel en la digestión y/o absorción de las proteínas bioactivas presentes en concentraciones relativamente mayores en el calostro. En efecto, McGilligan y colaboradores [85] mostraron la más alta presencia de A1AT en el calostro (1.4 a 5.2 g/L) en comparación con las primeras 26 semanas (0.07 g/L) o de las 26 a las 52 semanas de lactancia (0.05 g/L). La A1AT resiste la digestión en el tubo digestivo y se encuentra intacta en las heces de lactantes en cantidades significativas [86]. Se han realizado esfuerzos para expresar A1AT humana en corderos transgénicos para posibles aplicaciones en humanos [87, 88].

#### Desarrollo intestinal

##### Factores de crecimiento

En la literatura se han descrito los factores de crecimiento, sus concentraciones en la LM y fuentes biológicas [89]. Es posible que se originen a partir de las células epiteliales o del estroma así como de los macrófagos de las glándulas mamarias, los factores de crecimiento están presentes en cantidades de microgramos por litro en la LM. Los factores de crecimiento que están presentes en la luz intestinal, como el factor de crecimiento epidérmico y los factores de crecimiento semejantes a insulina 1 y 2, se originan ya sea de las glándulas salivales de los lactantes o de la leche de las madres [90]. Aún no está del todo clara la forma en que son capaces de ejercer sus efectos sobre sus receptores, que se localizan en la cara basolateral de las células epiteliales intestinales de absorción. En efecto, se ha sugerido que el intestino inmaduro del lactante proporciona acceso a los ligandos hacia el compartimento basolateral. Los lactantes prematuros, cuyo intestino está relativamente subdesarrollado, en comparación con el de los lactantes de término, tal vez tenga concentraciones mucho mayores del factor de crecimiento epidérmico en la leche secretada por sus madres [91].

##### Lactoferrina

La exposición de la lactoferrina a los modelos de cultivo de células intestinales muestra aumento de proliferación y diferenciación de una manera dependiente de la dosis [92].

Además, tiene también una mayor proliferación de las células de las criptas intestinales en un modelo de lechón [93]. En efecto, es lógico que la maduración rápida de los epitelios intestinales de absorción, en presencia de lactoferrina, contribuya a un mayor aumento de peso en los lactantes alimentados con sustituto de LM con lactoferrina, en comparación con un grupo control sin lactoferrina [94].

#### Transportadores de otros nutrientes

##### Lactoferrina

La absorción de hierro en el lactante alimentado al seno materno es más efectiva que con la fórmula infantil a base de leche de vaca [95]. Ciertamente, esto más tarde se atribuyó a la presencia de concentraciones relativamente altas de lactoferrina en la LM, en comparación con la leche de bovino (aproximadamente 1 mg/mL y 10 mcg/mL, respectivamente) y la mayor parte del hierro en la leche se fija a la lactoferrina [25, 26]. Así mismo, más tarde se identificó un receptor de lactoferrina, el cual tenía una mayor afinidad por la lactoferrina humana para la absorción de hierro en comparación con la lactoferrina bovina [96]. En la actualidad se intenta expresar lactoferrina humana recombinante en el arroz, y una comparación de la estabilidad y actividad biológica ha mostrado resultados promisorios para su posible uso en los sustitutos de la LM [97].

##### Haptocorrina

La haptocorrina, también conocida como transcobalamina 1, tal vez un nombre derivado de "transportador de cobalamina", un nombre alternativo para la vitamina B<sub>12</sub>, es una proteína de fijación que se encuentra en la LM [98]. En los adultos, la absorción de la B<sub>12</sub> depende de los jugos digestivos, enzimas, proteínas fijadoras secretadas en el estómago, factores intrínsecos y sus receptores en el intestino delgado [99]. Sin embargo, en los lactantes se han encontrado cantidades muy bajas de factores intrínsecos en la materia fecal, lo que tal vez indique que la haptocorrina desempeñe un papel mayor en el transporte de la vitamina B<sub>12</sub> [100].

##### Proteína fijadora de folato

Identificada a finales de la década de 1960, la proteína fijadora de folato (FBP, *folate-binding protein*) se fija casi por completo a todo el folato natural de la LM, así como el de la leche de vaca [101, 102]. Desde su descubrimiento se pensó que la FBP secuestra diversas formas de folato y asegura el suministro adecuado para el recién nacido al prevenir también la oxidación en el tubo digestivo [103, 104]. Los sólidos conjuntados de la leche materna y la de bovino contienen alrededor de 2 000 nmol/kg, mientras que la leche de cabra contiene el doble y el secado mediante congelación o secado mediante aspersion de la leche a polvo retiene prácticamente toda la FBP [105, 106]. En vista de que la FBP es capaz de



soportar la digestión, es lógico que el revestimiento intestinal permeable del intestino del lactante sea capaz de captar el complejo folato-FBP por lo menos durante semanas o incluso meses después del parto hasta que se forman las uniones intercelulares herméticas [54].

#### $\alpha$ - lactoalbúmina

En un principio se propuso que transportaba cationes divalentes como calcio y zinc [54], después mostró absorción mayor en los monos rhesus lactantes [107]. Sin embargo, el trabajo de investigación en los lactantes humanos no mostró ningún signo de absorción alterada de hierro con la fórmula infantil enriquecida con  $\alpha$ -lactoalbúmina [108], lo que justifica más estudios para este beneficio biológico.

#### $\beta$ caseína

La concentración total de caseína aumenta durante la lactancia y representa alrededor de 10 a 20% durante las etapas tempranas y 40 a 40% cuando la lactancia madura [109, 110]. En la leche madura, la  $\beta$  caseína representa hasta 25% o aproximadamente 2.7 g/L en la LM [58]. Esta proteína está altamente fosforilada, lo cual por lo menos en un modelo preclínico ha mostrado que solubiliza el calcio y la captación por las células intestinales, por lo menos en parte, al formar fosfopéptidos de caseína que actúan como ionóforos de calcio o

transportadores de calcio a través de la membrana [111, 112]. Falta por hacer más investigación para dilucidar el papel de los fosfopéptidos de caseína en el aumento de la captación de otros cationes divalentes como zinc e incluso el hierro.

## Conclusión

Hallazgos recientes sobre las proteínas nutritivas y bioactivas de la leche materna apoyan las recomendaciones de la OMS de que la alimentación al seno materno debe continuarse durante el primer año y más allá. Los fabricantes de fórmulas infantiles deben eliminar del mercado las fórmulas de alto contenido de proteínas. Las nuevas fórmulas para lactantes deben ser de bajo contenido proteínico, en particular las fórmulas de seguimiento y las leches para el crecimiento. La calidad de la proteína de las fórmulas (perfiles de aminoácidos) deben ser más cercanas a las de la LM. Antes de agregar proteínas bioactivas a las fórmulas infantiles, los fabricantes deben proporcionar pruebas de seguridad y eficacia.

## Declaración

F.HY. es miembro del consejo del Nestlé Nutrition Institute, una asociación suiza sin afán de lucro la cual recibe donaciones educacionales de Nestec S.A, Suiza, y otras fuentes. S.K.T es empleado del Nestlé Research Center, Lausana, Suiza.

## Referencias

1. Haschke F, et al: Feeding patterns during the first 2 years and health outcome. *Ann Nutr Metab* 2013;62(suppl 3):16–25.
2. Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators: Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015;386:743–800.
3. Fomon SJ: Requirements and recommended dietary intakes of protein during infancy. *Pediatr Res* 1991;30:391–395.
4. Heinig MJ, et al: Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr* 1993;58:152–161.
5. Lonnerdal B, Erdmann P, Thakkar SK, Sauser J, Destaillats F: Longitudinal evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: a developmental perspective. *J Nutr Biochem* 2016;41:1–11.
6. Donovan SM, et al: Partition of nitrogen intake and excretion in low-birth-weight infants. *Am J Dis Child* 1989;143:1485–1491.
7. Fomon SJ, et al: Body composition of reference children from birth to age 10 years. *Am J Clin Nutr* 1982;35(suppl):1169–1175.
8. Zhang Z, et al: Amino acid profiles in term and preterm human milk through lactation: a systematic review. *Nutrients* 2013;5:4800–4821.
9. Ziegler EE, et al: Body composition of the reference fetus. *Growth* 1976;40:329–341
10. Haschke F, Grathwohl D, Haiden N: Metabolic programming: effects of early nutrition on growth, metabolism and body composition. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 2016;86:87–95.
11. Dewey KG, et al: Breast-fed infants are leaner than formula-fed infants at 1 y of age: the DARLING study. *Am J Clin Nutr* 1993;57:140–145.
12. Weber M, et al: Lower protein content in infant formula reduces BMI and obesity risk at school age: follow-up of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2014;99:1041–1051.
13. Axelsson IE, Ivarsson SA, Raiha NC: Protein intake in early infancy: effects on plasma amino acid concentrations, insulin metabolism, and growth. *Pediatr Res* 1989;26:614–617.
14. Socha P, et al: Milk protein intake, the metabolic-endocrine response, and growth in infancy: data from a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2011;94(suppl):1776S–1784S.
15. Alexander DD, et al: Growth of infants consuming whey-predominant term infant formulas with a protein content of 1.8 g/100 kcal: a multicenter pooled analysis of individual participant data. *Am J Clin Nutr* 2016;104:1083–1092.
16. Raiha NC, et al: Whey predominant, whey modified infant formula with protein/energy ratio of 1.8 g/100 kcal: adequate and safe for term infants from birth to four months. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35:275–281.
17. Haschke F, et al: Postnatal high protein intake can contribute to accelerated weight gain of infants and increased obesity risk. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 2016;85:101–109.
18. WHO: WHO Child Growth Standards: Length/Height-for-Age, Weight-for-Age, Weight-for-Length, Weight-for-Height and Body Mass Index-for-Age, Methods and Development. Geneva, WHO, 2016.
19. Inostroza J, et al: Low-protein formula slows weight gain in infants of overweight mothers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59:70–77.
20. Ziegler EE, et al: Adequacy of infant formula with protein content of 1.6 g/100 kcal for infants between 3 and 12 months. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;61:596–603.
21. Dewey KG, Heinig MJ, Nommsen-Rivers LA: Differences in morbidity between breast-fed and formula-fed infants. *J Pediatr* 1995; 126:696–702.
22. Isolauri E: Development of healthy gut microbiota early in life. *J Paediatr Child Health* 2012;48(suppl 3):1–6.

23. Blanc B, Bujard E, Mauron J: The amino acid composition of human and bovine lactotransferrins. *Experientia* 1963;19:299–301.
24. Siqueiros-Cendon T, et al: Immunomodulatory effects of lactoferrin. *Acta Pharmacol Sin* 2014;35:557–566.
25. Lonnerdal B, Iyer S: Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu Rev Nutr* 1995;15:93–110.
26. Rai D, et al: Longitudinal changes in lactoferrin concentrations in human milk: a global systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2014;54:1539–1547.
27. Lonnerdal B: Bioactive proteins in breast milk. *J Paediatr Child Health* 2013;49(suppl 1):1–7.
28. Actor JK, Hwang SA, Kruzal ML: Lactoferrin as a natural immune modulator. *Curr Pharm Des* 2009;15:1956–1973.
29. Tomita M, et al: Potent antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin. *J Dairy Sci* 1991;74:4137–4142.
30. Edde L, et al: Lactoferrin protects neonatal rats from gut-related systemic infection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G1140–G1150.
31. Bruni N, et al: Antimicrobial activity of lactoferrin-related peptides and applications in human and veterinary medicine. *Molecules* 2016;21:E752.
32. Brouwer CP, Rahman M, Welling MM: Discovery and development of a synthetic peptide derived from lactoferrin for clinical use. *Peptides* 2011;32:1953–1963.
33. Goldman AS, et al: Immunologic factors in human milk during the first year of lactation. *J Paediatr* 1982;100:563–567.
34. Lycke N, et al: Lack of J chain inhibits the transport of gut IgA and abrogates the development of intestinal antitoxic protection. *J Immunol* 1999;163:913–919.
35. Silvey KJ, et al: Role of immunoglobulin A in protection against reovirus entry into Murine Peyer's patches. *J Virol* 2001;75:10870–10879.
36. Forbes SJ, et al: Transient suppression of Shigella flexneri type 3 secretion by a protective O-antigen-specific monoclonal IgA. *MBio* 2011;2:e00042-11.
37. Stokes CR, Soothill JF, Turner MW: Immune exclusion is a function of IgA. *Nature* 1975;255:745–746.
38. Ashkar S, et al: Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. *Science* 2000;287:860–864.
39. Schack L, et al: Considerable variation in the concentration of osteopontin in human milk, bovine milk, and infant formulas. *J Dairy Sci* 2009;92:5378–5385.
40. Maeno Y, et al: Effect of osteopontin on diarrhea duration and innate immunity in suckling mice infected with a murine rotavirus. *Viral Immunol* 2009;22:139–144.
41. Pabst HF, et al: Differential modulation of the immune response by breast- or formula-feeding of infants. *Acta Paediatr* 1997;86:1291–1297.
42. Azuma N, Maeta A, Fukuchi K, Kanno C: A rapid method for purifying osteopontin from bovine milk and interaction between osteopontin and other milk proteins. *Int Dairy J* 2006;16:370–378.
43. Lonnerdal B, et al: Growth, nutrition, and cytokine response of breast-fed infants and infants fed formula with added bovine osteopontin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2016;62:650–657.
44. Soder O: Isolation of interleukin-1 from human milk. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;83:19–23.
45. Hooton JW, et al: Human colostrum contains an activity that inhibits the production of IL-2. *Clin Exp Immunol* 1991;86:520–524.
46. Sarfati M, et al: Presence of IgE suppressor factors in human colostrum. *Eur J Immunol* 1986;16:1005–1008.
47. Munoz C, et al: Interleukin-1 beta in human colostrum. *Res Immunol* 1990;141:505–513.
48. Rudloff HE, et al: Tumor necrosis factor-alpha in human milk. *Pediatr Res* 1992;31:29–33.
49. Saito S, et al: Detection of IL-6 in human milk and its involvement in IgA production. *J Reprod Immunol* 1991;20:267–276.
50. Garofalo R, et al: Interleukin-10 in human milk. *Pediatr Res* 1995;37:444–449.
51. Eglinton BA, Robertson DM, Cummins AG: Phenotype of T cells, their soluble receptor levels, and cytokine profile of human breast milk. *Immunol Cell Biol* 1994;72:306–313.
52. Grosvenor CE, Picciano MF, Baumrucker CR: Hormones and growth factors in milk. *Endocr Rev* 1993;14:710–728.
53. Lonnerdal B: Human milk proteins: key components for the biological activity of human milk. *Adv Exp Med Biol* 2004;554:11–25.
54. Lonnerdal B: Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1537S–1543S.
55. Golinelli LP, Del Aguila EM, Flosi Paschoalini VM, Silva JT, Conte-Junior CA: Functional aspect of colostrum and whey proteins in human milk. *J Hum Nutr Food Sci* 2014;2:1035.
56. Cooper CA, Maga EA, Murray JD: Production of human lactoferrin and lysozyme in the milk of transgenic dairy animals: past, present, and future. *Transgenic Res* 2015;24:605–614.
57. Lee-Huang S, et al: Lysozyme and RNases as anti-HIV components in beta-core preparations of human chorionic gonadotropin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:2678–2681.
58. Cuilliere ML, et al: Changes in the kappa-casein and beta-casein concentrations in human milk during lactation. *J Clin Lab Anal* 1999;13:213–218.
59. Stromqvist M, et al: Human milk kappa-casein and inhibition of *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucosa. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:288–296.
60. Shin K, Tomita M, Lonnerdal B: Identification of lactoperoxidase in mature human milk. *J Nutr Biochem* 2000;11:94–102.
61. Steele WF, Morrison M: Antistreptococcal activity of lactoperoxidase. *J Bacteriol* 1969;97:635–639.
62. Bjorck L, et al: Antibacterial activity of the lactoperoxidase system in milk against pseudomonads and other gram-negative bacteria. *Appl Microbiol* 1975;30:199–204.
63. Aoki Y, Kobayashi K, Kajii T: Enzyme-linked immunoassay of haptocorrin: analysis of milk and granulocytes. *Biochem Med Metab Biol* 1992;47:189–194.
64. Adkins Y, Lonnerdal B: Potential host-defense role of a human milk vitamin B-12-binding protein, haptocorrin, in the gastrointestinal tract of breast-fed infants, as assessed with porcine haptocorrin in vitro. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1234–1240.
65. Jensen HR, et al: Effect of the vitamin B12-binding protein haptocorrin present in human milk on a panel of commensal and pathogenic bacteria. *BMC Res Notes* 2011;4:208.
66. Lonnerdal B, Lien EL: Nutritional and physiologic significance of alpha-lactalbumin in infants. *Nutr Rev* 2003;61:295–305.
67. Permyakov EA, Berliner LJ: Alpha-lactalbumin: structure and function. *FEBS Lett* 2000;473:269–274.
68. Pellegrini A, et al: Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine alpha-lactalbumin molecule. *Biochim Biophys Acta* 1999;1426:439–448.
69. Wada Y, Lonnerdal B: Bioactive peptides derived from human milk proteins – mechanisms of action. *J Nutr Biochem* 2014;25:503–514.
70. Hakansson A, et al: A folding variant of alpha-lactalbumin with bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 2000;35:589–600.
71. Lien EL: Infant formulas with increased concentrations of alpha-lactalbumin. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1555S–1558S.
72. Blackberg L, et al: The bile salt-stimulated lipase in human milk is an evolutionary newcomer derived from a non-milk protein. *FEBS Lett* 1980;112:51–54.
73. Freudenberg E: Lipase of human milk; studies on its enzymological and nutritional significance. *Bibl Paediatr* 1953;9:1–68.
74. Blackberg L, Hernell O: The bile-salt-stimulated lipase in human milk. Purification and characterization. *Eur J Biochem* 1981;116:221–225.
75. Blackberg L, et al: Bile salt-stimulated lipase in human milk and carboxyl ester hydrolase in pancreatic juice: are they identical enzymes? *FEBS Lett* 1981;136:284–288.
76. Hernell O, Blackberg L: Digestion of human milk lipids: physiologic significance of sn-2 monoacylglycerol hydrolysis by bile salt-stimulated lipase. *Pediatr Res* 1982;16:882–885.
77. Lindquist S, Hernell O: Lipid digestion and absorption in early life: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010;13:314–320.
78. Fredrikzon B, et al: Bile salt-stimulated lipase in human milk: evidence of activity in vivo and of a role in the digestion of milk retinoid esters. *Pediatr Res* 1978;12:1048–1052.
79. Andersson Y, et al: Pasteurization of mother's own milk reduces fat absorption and growth in preterm infants. *Acta Paediatr* 2007;96:1445–1449.
80. Casper C, et al: Recombinant bile salt-stimulated lipase in preterm infant feeding: a ran-

- domized phase 3 study. *PLoS One* 2016; 11:e0156071.
81. Heitlinger LA, et al: Mammary amylase: a possible alternate pathway of carbohydrate digestion in infancy. *Pediatr Res* 1983;17:15–18.
  82. Lindberg T, Skude G: Amylase in human milk. *Pediatrics* 1982;70:235–238.
  83. Dewit O, Dibba B, Prentice A: Breast-milk amylase activity in English and Gambian mothers: effects of prolonged lactation, maternal parity, and individual variations. *Pediatr Res* 1990;28:502–506.
  84. Hegardt P, et al: Amylase in human milk from mothers of preterm and term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984;3:563–566.
  85. McGilligan KM, Thomas DW, Eckhart CD: Alpha-1-antitrypsin concentration in human milk. *Pediatr Res* 1987;22:268–270.
  86. Davidson LA, Lonnerdal B: Fecal alpha 1-antitrypsin in breast-fed infants is derived from human milk and is not indicative of enteric protein loss. *Acta Paediatr Scand* 1990;79:137–141.
  87. Wright G, et al: High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. *Biotechnology (NY)* 1991;9:830–834.
  88. Carver A, et al: Expression of human alpha 1 antitrypsin in transgenic sheep. *Cytotechnology* 1992;9:77–84.
  89. Donovan SM, Odle J: Growth factors in milk as mediators of infant development. *Annu Rev Nutr* 1994;14:147–167.
  90. Playford RJ, Macdonald CE, Johnson WS: Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. *Am J Clin Nutr* 2000;72:5–14.
  91. Dvorak B, et al: Increased epidermal growth factor levels in human milk of mothers with extremely premature infants. *Pediatr Res* 2003;54:15–19.
  92. Buccigrossi V, et al: Lactoferrin induces concentration-dependent functional modulation of intestinal proliferation and differentiation. *Pediatr Res* 2007;61:410–414.
  93. Reznikov EA, et al: Dietary bovine lactoferrin increases intestinal cell proliferation in neonatal piglets. *J Nutr* 2014;144:1401–1408.
  94. Hernel O, Lonnerdal B: Iron status of infants fed low-iron formula: no effect of added bovine lactoferrin or nucleotides. *Am J Clin Nutr* 2002;76:858–864.
  95. Saarinen UM, Siimes MA, Dallman PR: Iron absorption in infants: high bioavailability of breast milk iron as indicated by the extrinsic tag method of iron absorption and by the concentration of serum ferritin. *J Pediatr* 1977;91:36–39.
  96. Kawakami H, Lonnerdal B: Isolation and function of a receptor for human lactoferrin in human fetal intestinal brush-border membranes. *Am J Physiol* 1991;261:G841–G846.
  97. Suzuki YA, et al: Expression, characterization, and biologic activity of recombinant human lactoferrin in rice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:190–199.
  98. Burger RL, Allen RH: Characterization of vitamin B12-binding proteins isolated from human milk and saliva by affinity chromatography. *J Biol Chem* 1974;249:7220–7227.
  99. Seetharam B, Alpers DH: Absorption and transport of cobalamin (vitamin B12). *Annu Rev Nutr* 1982;2:343–369.
  100. Adkins Y, Lonnerdal B: Mechanisms of vitamin B12 absorption in breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;35:192–198.
  101. Nygren-Babol L, Jagerstad M: Folate-binding protein in milk: a review of biochemistry, physiology, and analytical methods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2012;52:410–425.
  102. Ford JE, Salter DN, Scott KJ: A folate-protein complex in cow's milk. *Proc Nutr Soc* 1969; 28:39A–40A.
  103. Ford JE: Observations on the possible nutritional significance of vitamin-binding proteins in milk. *Proc Nutr Soc* 1974;33:15A.
  104. Ford JE: Some observations on the possible nutritional significance of vitamin B12-and folate-binding proteins in milk. *Br J Nutr* 1974;31:243–257.
  105. Wigertz K, Svensson UK, Jagerstad M: Folate and folate-binding protein content in dairy products. *J Dairy Res* 1997;64:239–252.
  106. Indyk HE, Filonzi EL, Gapper LW: Determination of minor proteins of bovine milk and colostrum by optical biosensor analysis. *J AOAC Int* 2006;89:898–902.
  107. Kelleher SL, et al: Glycomacropeptide and alpha-lactalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1261–1268.
  108. Szymlek-Gay EA, et al:  $\alpha$ -Lactalbumin and casein-glycomacropeptide do not affect iron absorption from formula in healthy term infants. *J Nutr* 2012;142:1226–1231.
  109. Kunz C, Lonnerdal B: Re-evaluation of the whey protein/casein ratio of human milk. *Acta Paediatr* 1992;81:107–112.
  110. Kunz C, Lonnerdal B: Human-milk proteins: analysis of casein and casein subunits by anion-exchange chromatography, gel electrophoresis, and specific staining methods. *Am J Clin Nutr* 1990;51:37–46.
  111. Sato R, Noguchi T, Naito H: Casein phosphopeptide (CPP) enhances calcium absorption from the ligated segment of rat small intestine. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1986;32:67–76.
  112. Ferraretto A, et al: Casein phosphopeptides influence calcium uptake by cultured human intestinal HT-29 tumor cells. *J Nutr* 2001; 131:1655–1661.
  113. Liu KY, et al: Natural killer cell populations and cytotoxic activity in pigs fed mother's milk, formula, or formula supplemented with bovine lactoferrin. *Pediatr Res* 2013;74:402–407.
  114. Hurley WL, Theil PK: Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients* 2011;3:442–474.

## La ingesta promedio de lípidos de leche materna en los lactantes alimentados por completo al seno materno es de 21.4 g/día o un total de 3.9 kg entre el nacimiento y los 6 meses de edad

Reimpreso con permiso de: *Ann Nutr Metab* 2016;69(suppl 2):28 - 40

### Lípidos en la leche materna

Por Berthold Koleztko

#### Información clave

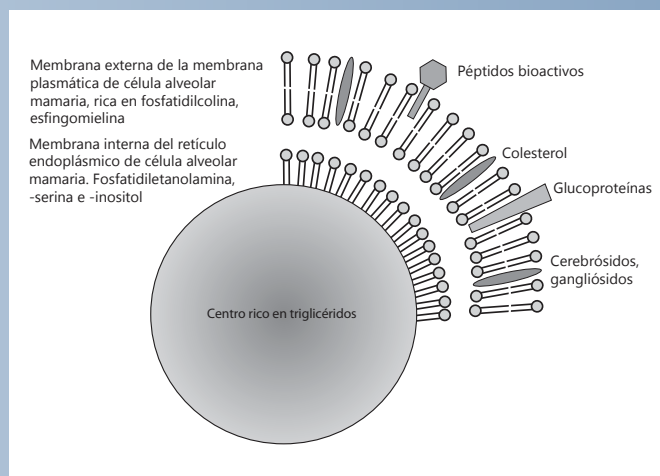
Los componentes lípidos de la leche materna proporcionan al lactante la energía y micronutrientes esenciales, "y desempeñan también papeles específicos para apoyar la función gastrointestinal, metabolismo de lípidos y lipoproteínas, neurodesarrollo e inmunidad. Se han realizado avances significativos tanto en la tecnología de alimentos, la cual permite el suministro de nuevas preparaciones de lípidos, como en los análisis lipidómicos, los cuales ofrecen conocimiento en los efectos biológicos de los lípidos complejos en la infancia. Esto prepara el camino para mejorar en la alimentación de los lactantes que no es posible alimentar al seno materno.

#### Conocimiento actual

Los lípidos de la leche materna proporcionan una porción importante de la ingesta energética total en los lactantes (cerca de la mitad del suministro energético). La concentración de lípidos de la leche varía de manera importante de una persona a otra, durante el día y durante el curso de la alimentación al seno materno. La leche final contiene una composición mayor de grasa y un mayor tamaño promedio correspondiente, del glóbulo de grasa de la leche. La capa externa de la membrana del glóbulo de grasa de la leche (MFGM, milk fat globule membrane) consiste de una bicapa de lípidos anfipáticos, principalmente fosfatidilcolina, esfingomielina y colesterol, así como cerebrósidos, gangliósidos y otros. Estos componentes son altamente bioactivos.

#### Implicaciones prácticas

La importancia biológica de la MFGM es obtener mayor atención después de varios estudios clínicos que informaron sobre beneficios por la adición de componentes de la MFGM a la fórmula infantil. La evidencia actual apoya la provisión de ácido omega-3 docosahexaenoico junto con ácido omega 6 araquidónico con la fórmula infantil. La revisión reciente de la legislación europea que se implementó en 2016



Estructura esquemática de un glóbulo de grasa de leche proveniente de leche materna

estipula que todas las fórmulas infantiles y de seguimiento deben contener entre 20 y 50 mg de ácido omega-3 docosahexaenoico por 100 kcal sin un requerimiento mínimo de ácido araquidónico. Éste es un concepto novedoso que nunca se ha probado en cuanto a su idoneidad y seguridad de los lactantes sanos desde el nacimiento, ni de indicaciones de la existencia de posibles efectos adversos. Por lo tanto, recomendamos no utilizar esta fórmula hasta que se disponga, en el futuro, de datos sobre su seguridad.

#### Lectura recomendada

Grote V, Verduci E, Scaglioni S, Vecchi F, Contarini G, Giovannini M, et al: Breast milk composition and infant nutrient intakes during the first 12 months of life. *Eur J Clin Nutr* 2016;70:250–256.

## Lípidos de la leche materna

Berthold Koletzko

Ludwig-Maximilians-Universität Munich, División de Metabolismo y Medicina Nutricional,  
Dr. von Hauner Children's Hospital, University of Munich Medical Center, Munich, Alemania

### Mensajes clave

- Los lípidos de la leche materna proporcionan una porción importante del suministro de energía a los lactantes alimentados al seno materno, así como vitaminas esenciales, ácidos grasos poliinsaturados, lípidos complejos y componentes bioactivos.
- Los datos recientes que evalúan la adición de preparaciones de lípidos complejos, con o sin membranas de glóbulos de grasa de leche, a fórmulas infantiles con base en aceite vegetal, muestran indicaciones promisorias para posibles mejorías del desarrollo y reducción del riesgo de infección en los lactantes.
- Los análisis de la interacción gen-dieta, que siguen el concepto de distribución aleatoria Mendeliana, se agregan a la evidencia de que el suministro de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en la infancia se relaciona de forma causal con la mejoría del desarrollo cognitivo y la reducción del riesgo de asma en la edad escolar. La evidencia actual apoya la provisión de ácido omega-3 docosahexaenoico junto con ácido omega 6 araquidónico con la fórmula infantil.
- El progreso metodológico significativo tanto en la tecnología de alimentos que permite la provisión de nuevas preparaciones de lípidos, como en el análisis lipídico ofrece oportunidades importantes para explorar los efectos biológicos del suministro de lípidos complejos de leche materna.

### Palabras clave

Lactancia materna · Membranas de glóbulos de grasa de leche · Fosfolípidos · Esfingomielinas · Gangliósidos · Ácido araquidónico · Ácido docosahexaenoico

### Resumen

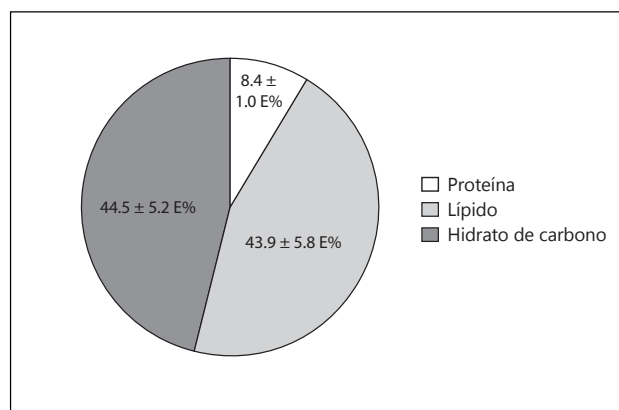
Los lípidos de la leche materna proporcionan al lactante energía y vitaminas esenciales, ácidos grasos poliinsaturados y componentes bioactivos. La adición de lípidos complejos y membranas de glóbulos de grasa de leche a la fórmula infantil con base en aceite vegetal tiene la posibilidad de aumentar el desarrollo del lactante y reducir las infecciones. La provisión de colesterol con la alimentación al seno materno modula el metabolismo del esteroide del lactante e induce beneficios a largo plazo. Entre 98 y 99% de los lípidos de la leche está compuesto por triacilglicérols, cuyas propiedades dependen de los ácidos grasos incorporados. Se ha dedicado atención a los papeles de los ácidos grasos poliinsaturados docosahexaenoico (DHA, *docosahexaenoic acid*) y araquidónico (ARA, *arachidonic acid*). En estudios recientes sobre la interacción gen-dieta (distribución aleatoria Mendeliana), se muestra que la alimentación al seno materno que proporciona DHA y ARA mejora el desarrollo cognitivo y reduce el riesgo de asma en la edad escolar, en particular en aquellos niños con menor actividad de síntesis de DHA y ARA genéticamente determinada. Parece prudente seguir el modelo biológico de la leche materna en el diseño de fórmula infantil, tanto como se pueda, a menos que se disponga de la evidencia concluyente de la

idoneidad y seguridad de otras opciones. La reciente estipulación legislativa de la Unión Europea sobre una fórmula con alto contenido de DHA, sin requerir ARA, se desvía de este concepto, y tal composición novedosa de la fórmula no se ha evaluado de forma adecuada. Surgen grandes oportunidades futuras con el progreso metodológico significativo, en el análisis lipidómico y su evaluación bioinformática, por ejemplo; lo cual debe mejorar la comprensión de la biología de los lípidos de la leche materna. Tal conocimiento llevaría a un mejor consejo a las madres en lactancia, además aumentaría las oportunidades de mejorar la composición de la fórmula infantil.

© 2017 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basilea

## Introducción

Los lípidos son la principal fuente de energía que se proporciona al lactante, con la leche materna [1, 2], aunque proporciona también nutrientes esenciales como los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*) y vitaminas liposolubles. Se han demostrado en muchos estudios los efectos biológicos importantes de los lípidos de la leche que se proporcionan al lactante, por ejemplo, en la fun-



**Figura 1.** Contribución de macronutrientes a la ingesta total de energía en los lactantes alimentados al seno materno de 1 mes de edad. Tomado de datos de Grote y colaboradores.[4] E%, porcentaje de suministro de energía

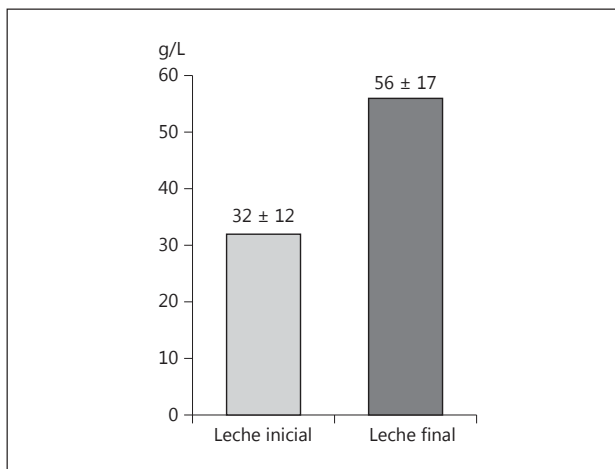
ción gastrointestinal, el metabolismo de lípidos y lipoproteínas, la composición y función de la membrana, el crecimiento, neurodesarrollo y función inmunitaria del lactante [3].

Los lípidos de la leche materna proporcionan una porción importante de la ingesta energética total en los lactantes peque-

**Cuadro 1.** Evolución longitudinal de los constituyentes de la leche materna en 30 mujeres en lactancia en seguimiento prospectivo

	Edad				Coeficiente de correlación intraclase <sup>2</sup>	Cambio promedio con el tiempo, valor de $p^2$
	1 mes	2 meses	3 meses	6 meses		
Energía, kcal/100 mL	66.1 (11.1)	68.3 (13.4)	63.0 (10.5)	62.4 (13.3)	0.40	0.065*
Hidratos de carbono, g/L	7.28 (1.36)	8.05 (1.15)	7.84 (1.39)	7.96 (1.74)	0.04	0.135
Lactosa, g/L	72.4 (13.5)	80.3 (11.6)	78.0 (13.9)	79.2 (17.3)	0.04	0.129
Galactosa, g/L	0.13 (0.04)	0.11 (0.03)	0.11 (0.04)	0.09 (0.03)	0.26	<0.001
Proteína, g/100 mL	1.38 (0.16)	1.16 (0.15)	1.04 (0.13)	0.96 (0.16)	0.43	<0.001
Nitrógeno no proteínico, g/dL	0.23 (0.02)	0.20 (0.02)	0.18 (0.02)	0.17 (0.02)	0.35	<0.001
Grasa, g/100 mL	3.20 (1.27)	3.16 (1.18)	2.92 (1.23)	2.71 (1.25)	0.40	0.164
Ácidos grasos saturados <sup>1</sup>	39.0 (5.62)	37.7 (4.38)	37.2 (4.82)	36.8 (4.64)	0.21	0.202
Ácidos grasos monoinsaturados <sup>1</sup>	45.8 (4.62)	46.7 (4.48)	47.0 (4.25)	47.0 (4.26)	0.31	0.517
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) <sup>1</sup>	15.2 (4.26)	15.6 (2.95)	15.7 (3.43)	16.3 (4.17)	0.38	0.530
18:2n-6 (ácido linoleico) <sup>1</sup>	12.8 (3.88)	13.2 (2.81)	13.5 (3.32)	14.0 (4.08)	0.41	0.435
20:4n-6 (ácido araquidónico) <sup>1</sup>	0.51 (0.16)	0.52 (0.13)	0.52 (0.10)	0.52 (0.15)	0.31	0.981
18:3n-3 (ácido $\alpha$ -linolénico) <sup>1</sup>	0.62 (0.16)	0.69 (0.18)	0.61 (0.14)	0.67 (0.13)	0.16	0.074
20:5n-3 (EPA) <sup>1</sup>	0.12 (0.03)	0.12 (0.03)	0.10 (0.03)	0.12 (0.05)	0.31	0.090
22:6n-3 (DHA) <sup>1</sup>	0.25 (0.11)	0.24 (0.11)	0.26 (0.09)	0.30 (0.15)	0.21	0.206
n-3 LC-PUFA <sup>1</sup>	0.48 (0.15)	0.48 (0.16)	0.49 (0.13)	0.56 (0.23)	0.17	0.148
n-6 LC-PUFA <sup>1</sup>	1.22 (0.34)	1.22 (0.30)	1.17 (0.20)	1.11 (0.31)	0.34	0.229

Los valores son promedio y SD. El coeficiente de correlación intraclase que refleja la estabilidad de los constituyentes de la leche materna a lo largo del tiempo en cada mujer, indica una variación intraindividual muy alta para los hidratos de carbono, mientras que la estabilidad a lo largo del tiempo fue más alta para el contenido de energía, proteína y grasa de la leche. Entre los ácidos grasos, los omega-3 tuvieron el coeficiente de correlación intraclase más bajo. <sup>1</sup> % de ácido graso de los lípidos totales de la leche. <sup>2</sup> Basado en el modelo de efectos aleatorios lineales con el sujeto como un efecto aleatorio y los meses como efecto fijo. \* Tendencia lineal. Modificado de Grote y colaboradores. [4].



**Figura 2.** Concentración de grasa de leche, en la leche inicial y la leche final, recolectadas antes y después del amamantamiento de 15 lactantes de término. Dibujado a partir de los datos de Khan y colaboradores [79].

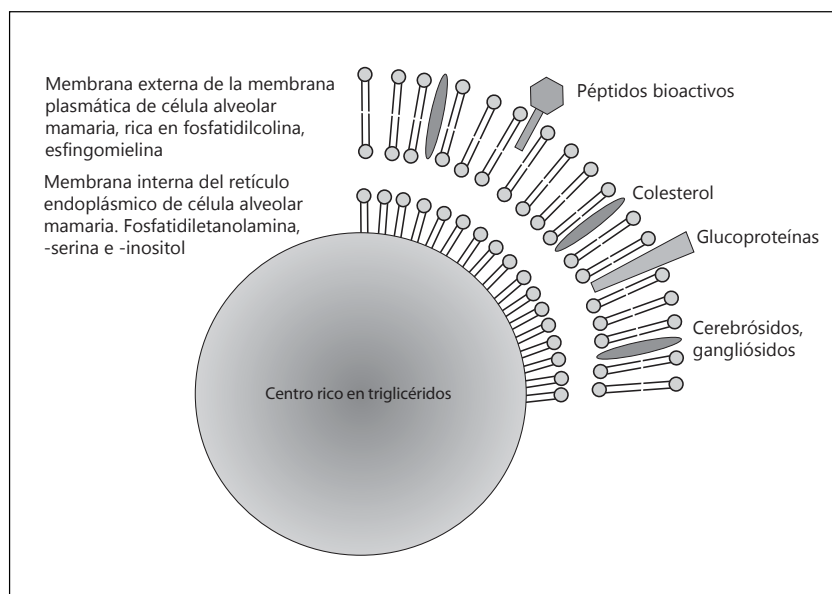
ños, con un suministro promedio de 44% de energía [4] (Figura 1). La ingesta promedio de lípidos en la leche materna en los lactantes alimentado por completo al seno materno suman 21.42 g/día entre el nacimiento y los 6 meses de edad [4]. Esto equivale a un impresionante 3.9 kg de lípido humano suministrado durante el primer medio año de vida a los lactantes alimentados por completo al seno materno, equivalente a 35 000 kcal proporcionadas por los lípidos de la leche materna sola, durante los primeros 6 meses de vida. Aunque el contenido promedio de lípidos en la leche materna es relativamente estable durante el curso de los primeros meses de lactancia, existe una amplia variación de una persona a otra e intraindividual, en cuanto a las concentraciones de grasa en la leche (Cuadro 1) [4-6]. En realidad, entre los macronutrientes en la leche, la grasa muestra la concentración más variable. Por ejemplo, en las muestras de leche madura recolectada a los 2 meses de edad del lactante, se encontró un coeficiente de variación de 37.3% para la grasa de la leche aunque sólo 14.4% para la lactosa y 12.9% para la proteína [4]. El contenido de grasa de la leche tiende a aumentar entre mayor sea la duración de la alimentación al seno materno y varía durante el curso del día [1,6]. La concentración de grasa de la leche materna aumenta cuando se aumenta el intervalo entre expresiones de leche de la misma mama y aumenta con el depósito de grasa de la madre durante el embarazo, indicado por el grado de aumento de peso gestacional [7]. La grasa de la leche aumenta durante el curso de cada amamantamiento, con contenido mucho más alto de grasa en la leche final (al final del amamantamiento) que en la leche inicial (al principio del amamantamiento) (Figura 2) [8]. Esto es un beneficio biológico en que los lactantes al principio obtendrán la leche rica en los sustratos esenciales hidrosolubles, mientras que los que tienen más hambre y beben más leche obtienen leche con creciente

contenido de grasa y energía para satisfacer sus necesidades calóricas. Es interesante que el aumento en el contenido de grasa de la leche durante la alimentación se acompaña de un aumento importante en el tamaño medio del glóbulo de grasa de la leche. Con lo que la leche final tiene una proporción más alta de triglicéridos en el centro del glóbulo de grasa de leche (que proporciona energía) y las membranas de la superficie (ricas en fosfolípidos, lípidos complejos y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga esenciales, LC-PUFA, *long-chain-PUFA*).

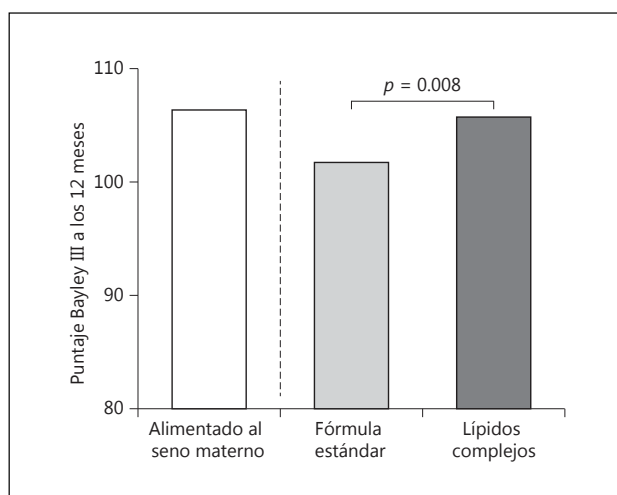
### Glóbulos de grasa de leche y lípidos complejos

La leche se cataloga como una emulsión de glóbulos de grasa de leche en un líquido acuoso. Los glóbulos de grasa de leche con tamaños muy variables, se forman en las células alveolares mamarias y contienen un centro de lípidos no polares compuestos principalmente por triglicéridos, con pequeñas cantidades adicionales de monoglicéridos, diglicéridos y ácidos grasos no esterificados. Estos lípidos no polares se forman en el retículo endoplásmico a partir de ácidos grasos obtenidos de la circulación de la madre, así como de ácidos grasos de cadena intermedia, principalmente con 12 y 14 átomos de carbono, sintetizados a partir de la acetil CoA. Al momento de la secreción desde el retículo endoplásmico de las células epiteliales mamarias hacia el citosol, este centro rico en triglicéridos se cubre por una membrana interna derivada del retículo endoplásmico que consiste de una monocapa principalmente de fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol y colesterol. Cuando estas gotas de lípido se excretan hacia afuera de las células epiteliales mamarias hacia el espacio alveolar, se cubren por un pedazo de membrana plasmática apical, lo cual da como resultado la adición de otra bicapa de fosfolípido y por lo tanto una tricapa de fosfolípidos, y los otros componentes de la membrana celular de las células epiteliales mamarias, como proteínas y glucoproteínas de membrana (Figura 3). Esta capa exterior del glóbulo de grasa de leche (MFGM, *milk fat globule membrane*) consiste en una bicapa de lípidos anfipáticos, principalmente fosfatidilcolina, esfingomielina y colesterol, así como cerebrosidos, gangliósidos, proteínas glucosiladas y polipéptidos, filamentos, mucinas, lactadherina, butirofilina y otros; por lo tanto, la MFGM contiene una alta densidad de componentes bioactivos [9].

Los fosfolípidos, plasmalógenos y esfingolípidos, que incluyen ceramidas y gangliósidos proporcionan alrededor de 1% de los lípidos totales de la leche o cerca de 100 a 400 mg/L [2]. Se informó que la concentración de los diferentes fosfolípidos por 100 g de leche fue de 8.5 mg esfingomielina, 6.8 mg fosfatidiletanolamina, 6.0 mg fosfatidilcolina, 1.4 mg fosfatidilserina y 1.1 mg/100 g para fosfatidilinositol [10]. Los fosfolípidos desempeñan papeles estructurales como componentes indispensables de todas las membranas plasmáticas de las células corporales y organelos y tienen un impacto sobre las uniones de la membrana y el metabolismo. Los lípidos complejos tienen también papeles



**Figura 3.** Representación esquemática de un glóbulo de grasa de leche materna.



**Figura 4.** Los lactantes alimentados con una fórmula de aceite vegetal con una preparación de glóbulo de grasa de leche de bovino con lípidos complejos y proteínas bioactivas presentaron resultados cognitivos mejorados a la edad de 1 año, en comparación con los alimentados con la fórmula estándar, y fueron más similares a los resultados de pruebas en el grupo de referencia alimentados al seno materno. Tomado de datos de Timby y colaboradores [16].

en la transmisión de señales y reconocimiento celular [2, 3]. Los gangliósidos contribuyen con 10% de los lípidos cerebrales con altas concentraciones en la corteza cerebral.

Cada vez se le da más atención a la importancia biológica de la MFGM después de que varios estudios comparativos informaron de beneficios de adicionar la MFGM de bovino a las fracciones de lípidos complejos de la fórmula infantil con grasa derivada principalmente proveniente de aceite vegetal. En un estudio sobre la fórmula enriquecida con esfingomiélin en lac-

tantes prematuros se informó de beneficios neuroconductuales [11]. En un estudio pequeño en Indonesia, se observó que la adición de la fracción de lípidos de leche de bovino enriquecida con gangliósidos mejoró el IQ de la coordinación mano y ojo, el IQ de desempeño y el IQ total, evaluado con la *Griffiths Mental Developmental Scale* a la edad de 24 semanas [12].

En otro estudio en el que se proporcionó una fórmula de leche con adición de una preparación similar durante 12 semanas en el que participaron 450 lactantes de 8 a 24 meses de edad, en la India, se informó que no existió diferencia para el rotavirus ni para diarrea por toda causa. En un estudio grande en el que se incluyó a 500 lactantes peruanos, la fórmula complementada con MFGM no afectó la incidencia, pero redujo la prevalencia longitudinal de la diarrea [13]. En un estudio más grande que incluyó a más de 250 niños de 2.5 a 6 años en Bélgica, se informó que una preparación láctea enriquecida con una fracción de lípidos rica en fosfolípidos dio como resultado un menor número de días y menor puntaje de los padres en cuanto a problemas internos, externos y conductuales totales [14]. Otro estudio más, en Suecia, que incluyó a 160 lactantes alimentados con fórmula, así como un grupo de referencia alimentado al seno materno, evaluó los efectos de la adición de MFGM bovina, junto con una fórmula con reducción del contenido de energía y proteína. El grupo de MFGM logró puntajes de cognición más altos en la prueba de Bayley a la edad de 1 año (Figura 4) y mostró una incidencia mucho menor de otitis media aguda, así como menor uso de fármacos antipiréticos [15, 16]. Estas observaciones llevan a la conclusión de que la MFGM y/o los lípidos complejos proporcionados con la fracción MFGM desempeñan papeles biológicos importantes para el desarrollo de las funciones nerviosas e inmunitarias.



## Colesterol

Los lípidos del glóbulo de grasa de leche proporcionan también cantidades considerables de colesterol libre y esterificado, lo que da como resultado un contenido de colesterol total de 90 a 150 mg/L en la leche materna, en contraste con la típica fórmula infantil con sólo 0 a 4 mg/L. el colesterol es un tabique indispensable para la construcción de todas las membranas celulares y se incorpora en cantidades considerables en la mielina en el sistema nervioso durante el periodo de crecimiento cerebral rápido, y sirve como el sustrato para la síntesis de los ácidos biliares, lipoproteínas, vitamina D, hormonas y oxisteroles que modulan la homeostasis del colesterol, lípidos y glucosa [3, 9, 17-19]. La provisión de colesterol con la alimentación al seno materno se relaciona con concentraciones plasmáticas más altas de colesterol total y de lipoproteína de baja densidad en los lactantes alimentados al seno materno en comparación con los alimentados con fórmula [20]. Es muy probable que la provisión de colesterol preformado sea la causa de la velocidad de síntesis 3 veces menor de colesterol endógeno en los lactantes alimentados al seno materno en comparación con los alimentados con fórmula, ya que la velocidad de síntesis está relacionada inversamente con el suministro diario de colesterol en mg/kg de peso corporal [21]. En los lechones alimentados con fórmula, el suministro de colesterol dietético disminuyó la hidroximetilglutaril coenzima A reductasa, la enzima reguladora de la velocidad de síntesis para el colesterol endógeno [22]. En los lactantes de 4 meses de edad, la velocidad de síntesis de colesterol endógeno también parece estar regulada por el suministro del colesterol dietético. Los lactantes alimentados al seno materno con una ingesta alta de colesterol y baja de fitoestrógenos tuvieron la velocidad de síntesis fraccionada más baja, mientras que los lactantes que recibieron fórmula con base en leche de vaca con colesterol bajo y bajo contenido de fitoestrógenos tuvieron una velocidad intermedia, y los lactantes alimentados con fórmula con base en soya sin colesterol y alto en fitoestrógenos tuvieron la velocidad de síntesis más alta [23]. Cuando se agrega colesterol a la fórmula infantil con base en soya, la velocidad de síntesis cambia a resultados similares a los de los lactantes alimentados con fórmula con base en leche de vaca, lo cual nos lleva a la conclusión de que la cantidad de suministro de colesterol dietético regula la síntesis de colesterol en los lactantes. En varios estudios se informó de los efectos duraderos, de la alimentación temprana sobre las concentraciones de colesterol posteriores a los que se revisaron en metanálisis. Se encontró una disminución más bien ligera del colesterol total y del de lipoproteína de baja densidad en adultos que habían sido alimentados al seno materno en la infancia, en comparación con las personas alimentadas previamente con fórmula, el efecto fue mayor en los de alimentación al seno materno exclusiva en comparación con alimentación parcial con leche materna [24, 25]. Se propuso que si 30% de los lactantes se alimentan exclu-

sivamente al seno materno, y esto resultara en reducción en el colesterol sanguíneo en la edad adulta de 0.15 mmol/L, la prevalencia de enfermedad cardiovascular en la población se reduciría hasta en 5% [25]. Sin embargo, Ip y colaboradores [26], observaron que el análisis que refirió reducción de las concentraciones de los lípidos séricos en adultos previamente alimentados al seno materno no segregó los datos según el género y no analizó explícitamente los posibles factores de confusión; ellos concluyeron que en vista de la limitada calidad metodológica del metanálisis, no es posible determinar de manera correcta la relación entre la alimentación con leche materna y las concentraciones de colesterol en el adulto. Los metanálisis de datos disponibles no permiten conclusiones definitivas con respecto a la relación entre la alimentación al seno materno y la mortalidad por toda causa con enfermedades cardiovasculares en la vida adulta, aunque los límites de confianza alrededor de los cálculos puntuales y los observados de la heterogeneidad entre estudios no descartan el potencial benéfico ni los efectos cardiovasculares adversos de la alimentación al seno materno [26, 27]. Por lo tanto, parece particularmente promisorio evaluar, en estudios comparativos con asignación aleatoria, los efectos a corto y largo plazos de la adición de preparaciones de colesterol con una buena biodisponibilidad, a la fórmula infantil, lo cual tal vez daría más luz sobre la posible importancia biológica de un suministro dietético de colesterol en la infancia.

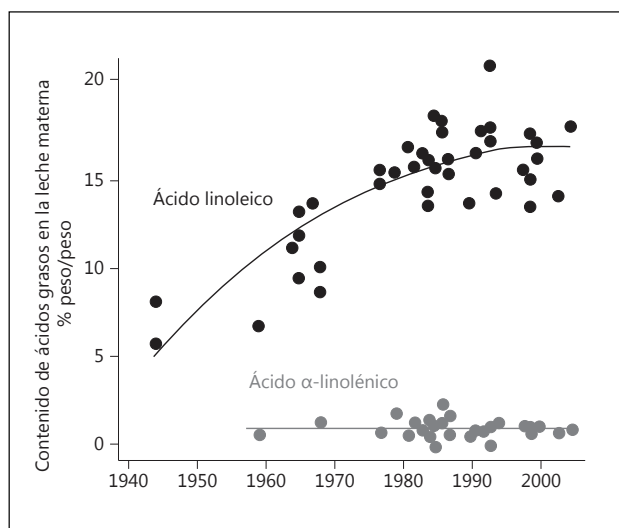
## Ácidos grasos proporcionados con los lípidos de la leche

Los triacilglicerolos contribuyen entre 98 y 99% de la grasa de la leche materna. Las propiedades de los triglicéridos de la leche están mucho más influenciadas por su composición de ácidos grasos. Los lípidos de la leche de las mujeres europeas hoy en día contienen típicamente 35 a 40% de ácidos grasos saturados, 45 a 50% de ácidos grasos monoinsaturados y aproximadamente 15% de PUFA (Cuadro 2). El ácido palmítico saturado (C16:0) proporciona aproximadamente 25% de todos los ácidos grasos de la leche y, por tanto, la mayor parte del contenido de ácido graso saturado total. Alrededor de 70% del ácido palmítico de la leche materna está esterificado en la posición media (posición sn-2) de los triacilglicerolos lo cual facilita su absorción. Durante la digestión intestinal, las lipasas pancreáticas liberan los ácidos grasos en las posiciones sn-1 y sn-2 como ácidos grasos no esterificados. Estos ácidos grasos no esterificados se absorben bien si son insaturados y por ello más hidrosolubles. En contraste, los ácidos grasos saturados de cadena larga que se liberan, como el ácido palmítico son poco solubles en agua y se absorben poco, más bien se fijan al calcio y forman jabones de calcio que se excretan en las heces, con lo que se reduce la absorción tanto de grasa como de calcio. Sin embargo, si el ácido palmítico se esterifica en la posición sn-2, como es el caso predominante en los lípidos de la leche materna,

**Cuadro 2.** Suministro absoluto de ácidos grasos con la leche materna en mujeres en lactancia a quienes se les hizo seguimiento prospectivo

	Edad			
	1 mes	2 meses	3 meses	6 meses
Ácidos grasos saturados	7 420.3 (2 425.5)	7 911.4 (2 398.4)	7 344.1 (2 390.0)	4 205.1 (3 107.4)
Ácidos grasos monoinsaturados	8 712.8 (2 998.6)	9 821.8 (3 115.3)	9 238.6 (2 974.8)	5 344.3 (3 953.1)
PUFA	2 851.5 (913.8)	3 278.8 (1 063.0)	3 082.1 (999.4)	1 884.8 (1 454.4)
18:2n-6 (ácido linoleico)	2 407.0 (767.2)	2 764.9 (915.0)	2 635.1 (859.7)	1 619.5 (1 275.4)
20:4n-6 (ácido araquidónico)	95.6 (32.9)	109.6 (38.6)	101.1 (33.1)	58.7 (43.5)
18:3n-3 (ácido $\alpha$ -linolénico)	118.8 (47.7)	144.7 (49.0)	118.8 (39.1)	76.8 (58.2)
20:5n-3 (EPA)	22.7 (9.23)	24.2 (7.90)	20.4 (6.45)	14.1 (10.77)
22:6n-3 (DHA)	48.5 (25.5)	51.3 (20.2)	50.3 (17.1)	32.7 (23.4)
n-3 LC-PUFA	92.3 (42.9)	101.2 (36.8)	95.0 (30.8)	62.2 (44.1)
n-6 LC-PUFA	228.7 (75.4)	256.9 (86.5)	229.7 (72.7)	126.3 (92.2)
n-3 PUFA	215.9 (85.2)	244.1 (81.6)	209.6 (66.1)	138.9 (99.5)
n-6 PUFA	2 635.7 (836.0)	3 021.8 (990.9)	2 865.0 (927.9)	1 745.8 (1 362.9)

Los valores son promedio de mg/día (SD). PUFA, ácidos grasos poliinsaturados (*polyunsaturated fatty acids*). Modificado de Grote y colaboradores [4].



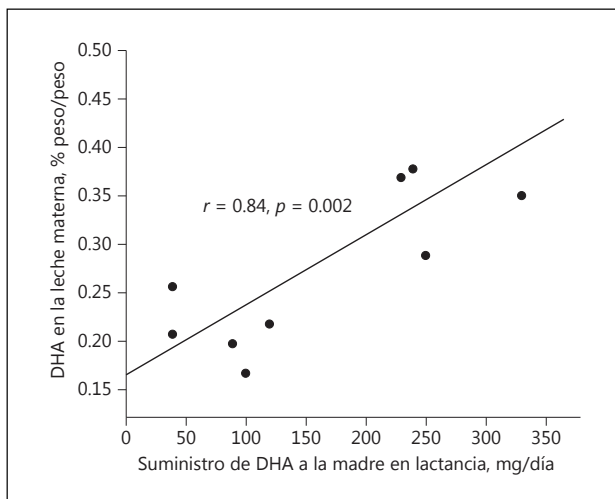
**Figura 5.** Evolución del contenido de ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico en la leche materna madura en EUA, a lo largo del tiempo. Dibujado a partir de los datos de Ailhaud y colaboradores [29].

la lipólisis pancreática da un palmitoil-monoglicerol el cual es hidrosoluble y se absorbe bien, con lo que se reduce la malabsorción de grasa y calcio [28].

El contenido de leche materna del ácido graso monoinsaturado, ácido oleico C18:1n-9) y los PUFA esenciales, ácido linoleico (C18:2n-6) y ácido  $\alpha$ -linolénico C18:3n-3), varía con la ingesta dietética materna de estos ácidos grasos. Esto se ilustra por el aumento, de casi al triple, del contenido de ácido linoleico en la leche materna madura en EUA desde mediados de la década de los 1940, junto con el aumento del consumo del aceite vegetal dietético y del ácido linoleico en la población, mientras que

el contenido del ácido  $\alpha$ -linolénico ha permanecido más bien constante (Fig.5) [29]. De este modo la proporción promedio de ácido omega-6 linoleico al ácido omega-3  $\alpha$ -linolénico en la leche materna ha aumentado también cerca de tres veces.

Se estudió la transferencia de ácido linoleico a la leche de mujeres en lactancia, utilizando ácidos grasos marcados con isótopo estable. Se proporcionó de manera repetida una dosis oral de 1 mg/kg de peso corporal de ácido linoleico marcado de manera uniforme con C<sup>13</sup> estable, durante la segunda, sexta y 12<sup>a</sup> semanas de lactancia [30]. Antes y varias veces durante un periodo de 5 días después de la ingesta del marcador, se recolectaron las muestras de aliento y leche, se evaluó la producción diaria de leche y se calculó la ingesta de nutrientes mediante protocolos dietéticos prospectivos. Cerca de 3.5 a 4.5% del ácido linoleico ingerido se oxidó a CO<sub>2</sub> y se exhaló en el aliento, sin diferencias significativas entre los puntos temporales estudiados. El ácido linoleico dietético se transfirió con rapidez a la leche, con un enriquecimiento máximo que se alcanzó cerca de 12 horas después de la ingesta (Figura 6). La transferencia del linoleico original o sus metabolitos no cambió durante el curso de la lactancia. Los datos indican que cerca de 30% del ácido linoleico de la leche se deriva en forma directa de la ingesta dietética, mientras que cerca de 70% se origina a partir de las reservas de grasa corporal de la madre. Es tentador especular que esta transferencia, en gran medida indirecta, de linoleico dietético a través de las reservas corporales intermedias, representan un beneficio biológico para el lactante alimentado al seno materno, ya que este mecanismo amortigua la variación de corto plazo del suministro dietético de la madre del ácido graso esencial original y proporciona al lactante con un suministro relativamente estable del ácido graso original. Sin embargo, los cambios a largo plazo en el suministro dietético también



**Figura 6.** El suministro de DHA a las mujeres en lactancia determina el contenido de DHA en su leche. Dibujado a partir de datos de Fidler y colaboradores [33].

modificarán las reservas de grasa corporal materna y de este modo se explican los cambios importantes observados a lo largo del tiempo (Fig. 5). Sólo cerca de 11% del contenido de metabolito de ácido linoleico, ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico (C20:3n-6), en la leche se origina de la conversión directa endógena del ácido linoleico dietético materno, mientras que sólo 1.2% del ácido araquidónico de la leche (ARA, C20:4n-6) se deriva en forma directa de la ingesta materna de ácido linoleico [30].

### Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga

La provisión de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA, *long-chain polyunsaturated fatty acids*) con leche, en particular de ácido omega-6 ARA y ácido omega-3 docosahexaenoico (DHA), ha recibido atención considerable, debido a que muchos de los efectos biológicos de los ácidos grasos esenciales al principio de la vida parecen estar mediados por LC-PUFA en vez de los ácidos grasos precursores. Brenna y colaboradores [31] realizaron una revisión sistemática de 106 estudios de leche materna en el mundo entero y seleccionaron para incluir sólo estudios que utilizaron métodos modernos de análisis capaces de hacer cálculos precisos del contenido de ácidos grasos, así como criterios relacionados con un informe exhaustivo. El análisis final incluyó 65 estudios con leche de 2 474 mujeres. Los autores encontraron un contenido de ARA en la leche de  $0.47 \pm 0.13\%$  (promedio  $\pm$  SD, % peso/peso), mientras que el contenido de DHA fue menor con  $0.32 \pm 0.22\%$  [31]. Se encontraron contenidos de DHA más altos en la leche de poblaciones costeras y aquellas con consumo regular de alimento marino. La mayor estabilidad en las concentraciones de ARA en la leche con un coeficiente de variación de sólo 29%, en comparación

con el DHA con un coeficiente de variación de 69% parece reflejar un mayor grado de regulación metabólica del contenido de ARA en la leche. Los estudios con isótopo estable nos han llevado a la conclusión de que 90% del ARA de la leche materna no se deriva en forma directa de los lípidos dietéticos absorbidos, sino más bien a partir de las reservas corporales de ARA [32]. En contraste, el suministro de DHA dietético es un determinante clave del contenido de DHA de la leche. Se mostró que la ingesta dietética de DHA se correlaciona en forma lineal con el DHA de la leche (Figura 6) [33]. Las mujeres en lactancia necesitan lograr una ingesta diaria de DHA de por lo menos 200 mg, para proporcionar leche con un contenido de DHA de por lo menos 0.3%, que es lo que se requiere para que un lactante alimentado por completo al seno materno, obtenga el suministro diario de cerca de 100 mg de DHA/día, cantidad que se considera deseable para satisfacer las necesidades metabólicas [34]. Dado que la regulación del contenido de ARA y DHA en la leche materna difiere, el DHA y ARA de la leche no se correlacionan de forma cercana ( $r = 0.25$ ,  $p = 0.02$ ) [31], y la proporción ARA/DHA no es constante. Sigue siendo controvertido si tiene una mayor relevancia, la proporción ARA a DHA en la leche o más bien las cantidades de DHA y de ARA suministradas, para los efectos biológicos en el lactante. Un suministro balanceado tanto de ARA como de DHA parece ser relevante para la incorporación adecuada de ARA y DHA en el cerebro en crecimiento [35].

En vista de la acumulación importante de ARA y DHA en el cerebro en crecimiento y la amplia evidencia experimental del impacto de los LC-PUFA sobre la función de la membrana, se tiene un gran interés en la formación de eicosanoide y docosanoide y la regulación resultante de los procesos fisiológicos, así como el desarrollo y función de los tejidos nervioso e inmunitario, además del impacto de la provisión de LC-PUFA con la leche materna y la fórmula infantil.

Se ha mostrado que la provisión de DHA aumenta el desarrollo temprano de la agudeza visual. La *European Food Safety Authority* (EFSA) concluyó que se ha establecido una relación causa-efecto entre la ingesta de fórmula infantil y de seguimiento, complementada con DHA, en niveles cercanos a 0.3% de ácidos grasos totales y la función visual a los 12 meses, en lactantes alimentados con fórmula, nacidos de término, desde el nacimiento hasta los 12 meses, así como en los lactantes alimentados al seno materno después del destete hasta los 12 meses [36]. Sin embargo, sigue existiendo cierta controversia con respecto a los efectos del suministro de LC-PUFA preformado en el neurodesarrollo de lactantes de término sanos. Por ejemplo, los autores de un metanálisis sobre estudios con asignación aleatoria que evaluaron la fórmula infantil con LC-PUFA, en comparación con la fórmula sin LC-PUFA, concluyeron que, aunque algunos estudios mostraron un beneficio significativo, en general

no se detectó un efecto importante.[37,38] Los autores observaron la limitación de sus conclusiones debido a un alto grado de heterogeneidad de los estudios incluidos, lo cual dio como resultado intervenciones muy diferentes con una variedad importante de criterios de valoración y estrategias de evaluación de resultados muy diferentes. Es importante que, los estudios incluidos no se ajustaron para la variación genética de mayor impacto en la modulación de la variación de la velocidad de síntesis endógena de los LC-PUFA y criterios de valoración clínicos relacionados, en particular las variaciones en el conjunto de genes de *Fatty Acid Desaturase (FADS)* [39, 40]. La falta de ajuste, para este importante factor de confusión en la modulación, en los estudios incluidos, reduce de manera considerable la sensibilidad para detectar los efectos de los LC-PUFA dietéticos. También es difícil de interpretar la comparación, de los lactantes alimentados al seno materno con LC-PUFA preformado, con los lactantes alimentados con fórmula sin LC-PUFA, en los estudios de observación, porque el suministro de LC-PUFA en la leche materna y en particular el suministro de DHA están relacionados estrechamente con diferentes elecciones dietéticas y de estilo de vida, que incluyen el tabaquismo materno y el estado socioeconómico de los padres, todo lo cual influye también en los resultados del desarrollo neural.

Se ofrecen más conocimientos sobre los efectos de PUFA al considerar la interacción de la alimentación al seno materno, la cual siempre suministra LC-PUFA preformado y la variación genética en el conjunto de genes *FADS* que pronostica las actividades enzimáticas de las desaturasas 1 y 2 de ácido graso. Las variantes genéticas del conjunto de genes *FADS* tienen un impacto importante sobre la composición de ácidos grasos en la sangre, tejidos y leche materna [39-41]. Se evaluaron los polimorfismos de nucleótido único en los genes *FADS*, junto con la composición de ácidos grasos de la leche materna, en 722 madres en lactancia que participaron en el estudio prospectivo Ulm Birth Cohort tanto a los 1.5 meses después del nacimiento del lactante, como a los 6 meses posparto en un subgrupo de 463 madres que seguían amamantando en ese momento [42]. Se encontró que, en ambos puntos temporales existían relaciones significativas del genotipo *FADS* con el contenido de ARA y la proporción de ARA a ácido dihomo- $\gamma$ -linoléico, lo que indica que los genotipos *FADS* de las madres tienen un impacto en la formación de LC-PUFA proporcionado con la leche materna [42]. Se mostró también que la variación de los genotipos *FADS* modula la interacción de la alimentación al seno materno y el desarrollo cognitivo. Se realizó genotipado para la variante rs174575 en el gen *FADS2* de 5 934 niños que participaron en el estudio ALSPAC en quienes se realizaron pruebas de IQ a la edad de 8 años [43]. En línea con otros estudios de observación, los niños alimentados al seno materno tuvieron puntajes más altos que los alimentados con fórmula,

pero el impacto relativo del suministro de nutrientes de la leche materna, y los factores de confusión relacionados con estos datos de observación, no son fáciles de descifrar a partir de datos de observación solos. Las inferencias causales, sobre el papel del suministro de LC-PUFA en la leche materna, se obtienen a partir del hecho de que el efecto benéfico de la alimentación al seno materno fue mucho más pronunciado, con una ventaja agregada de alrededor de 4.5 puntos de IQ, en el grupo de niños con un genotipo que pronosticaba una capacidad baja de síntesis de LC-PUFA [43]. La replicación de estos hallazgos se publicó con el análisis de datos provenientes de dos estudios españoles de cohorte de nacimiento [44]. En vista de que se considera que el genotipo se distribuye en la población al azar (“distribución aleatoria Mendeliana”) y sin relación con la decisión de los padres de alimentar al seno materno y a otros factores pronóstico del IQ en la edad escolar relacionados con el estilo de vida, estos datos proporcionan evidencia poderosa para la causalidad entre el suministro temprano de LC-PUFA y el estado durante el periodo de amamantamiento y los logros de IQ posteriores.

La relevancia del suministro de LC-PUFA para el neurodesarrollo del niño se demostró también en un estudio clínico con asignación aleatoria en el que se incluyó a 119 mujeres de Texas en lactancia [45]. Se asignó a las mujeres a recibir cápsulas idénticas que contenían aceite de algas con alto contenido de DHA que proporcionaba aproximadamente 200 mg diarios de DHA o un aceite vegetal sin DHA desde el parto hasta 4 meses después del nacimiento. La provisión de DHA a la madre aumentó el DHA en la leche 70% y en los fosfolípidos del suero del lactante cerca de 20% [45]. A la edad de 30 meses, el desarrollo psicomotor del niño fue significativamente mejor si las madres habían recibido DHA adicional durante los primeros 4 meses de alimentación al seno materno. A la edad de 5 años, no existieron diferencias en la función visual, pero los niños cuyas madres habían recibido el DHA adicional tuvieron un mucho mejor desempeño en la *Sustained Attention Subscale* de la *Leiter International Performance Scale* ( $46.5 \pm 8.9$  vs.  $41.9 \pm 9.3$ ,  $p < 0.008$ ). Estos resultados apoyan la conclusión de que el suministro de DHA durante la infancia temprana es importante para aspectos específicos de neurodesarrollo.

La distribución aleatoria Mendeliana proporcionó también apoyo fuerte para la conclusión de que el suministro de LC-PUFA con la alimentación al seno materno se vincula causalmente con la protección contra la manifestación posterior de asma bronquial. Muchos estudios han informado sobre un efecto protector de la alimentación al seno materno sobre el desarrollo de asma, aunque los resultados no son consistentes [26]. Se evaluó la influencia de los polimorfismos del conjunto de genes *FADS1 FADS2* acerca de la relación entre la alimentación al seno materno y el asma en 2 245 niños que participaron en dos estudios alemanes de cohorte prospectiva

de nacimiento, los estudios GINI y LISA [46]. Se utilizó el modelo de regresión logística para analizar la relación entre la alimentación exclusiva al seno materno y la ocurrencia del asma diagnosticada por un médico a la edad de 10 años, estratificados por genotipo. En el análisis estratificado, los portadores homocigóticos y heterocigóticos del alelo menor que muestra actividad baja de la síntesis de LC-PUFA tuvieron un menor riesgo de asma posterior si se alimentaban al seno materno durante 3 o 4 meses y por ello recibieron LC-PUFA preformada, que compensa la síntesis baja endógena (cociente de probabilidad ajustado entre 0.37 [IC 95%: 0.18 – 0.80] y 0.42 [IC 95%: 0.20 – 0.88]. Los términos de interacción de la alimentación al seno materno con el genotipo fueron significativos y variaron desde -1.17 ( $p = 0.015$ ) hasta -1.33 ( $p = 0.0066$ ). De manera similar, los portadores homocigóticos y heterocigóticos del alelo menor que se alimentaron exclusivamente al seno materno durante 5 o 6 meses después del nacimiento tuvieron un menor riesgo de asma en el análisis estratificado (0.32 [0.18–0.57] a 0.47 [0.27–

0.81]). En contraste, en los portadores homocigóticos del alelo mayor, que pronostica un mayor grado de formación de LC-PUFA endógeno, la leche materna con provisión de LC-PUFA no mostró un efecto significativo en cuanto al desarrollo del asma. Estos resultados del estudio de distribución aleatoria mendeliana demuestran una protección causal duradera de la alimentación al seno materno durante por lo menos 3 meses en contra del asma diagnosticada por un médico hasta la edad escolar en niños con una baja velocidad de síntesis de LC-PUFA y un efecto modulador del estado posnatal del PUFA.

En fechas recientes se realizó una revisión sistemática sobre estudios en humanos sobre los papeles de LC-PUFA y un taller de expertos que revisó la información y desarrolló recomendaciones, con apoyo de la *Early Nutrition Academy* [34]. Se concluyó que las mujeres que amamantan deben recibir  $\geq 200$  mg de DHA/día para lograr un contenido de DHA en la leche materna de por lo menos  $\sim 0.3\%$  de ácidos grasos. La fórmula infantil para lactantes de término debe contener DHA y ARA para proporcionar 100 mg DHA/día y 140 mg ARA/día y debe continuarse con un suministro de 100 mg de DHA/día durante la segunda mitad de la infancia. No se proporcionó un consejo cuantitativo sobre las concentraciones de ARA en la fórmula de seguimiento que se da después de la introducción de alimentación complementaria debido a la falta de datos suficientes y una variación considerable en las cantidades de ARA proporcionadas con los alimentos complementarios.

## ¿La composición de la leche materna debe guiar la composición de LC-PUFA de la fórmula infantil?

Con respecto a la fórmula infantil y la de seguimiento, la revisión reciente de la legislación europea que entró en vigencia en 2016 estipula que todas las fórmulas infantiles y de seguimiento deben contener entre 20 y 50 mg de DHA/100 kcal (aproximadamente 0.5 a 1% de ácidos grasos), mientras que la fórmula sin contenido de DHA no se permitirá en el mercado de la Unión Europea una vez que se implemente la legislación [47]. Para sorpresa de muchos pediatras y expertos en el campo, no se definió ningún requerimiento para un contenido mínimo de ARA en la fórmula infantil. Este reglamento legal se basa en el consejo proporcionado por la *European Food Safety Authority* que revisó una variedad de aspectos y nutrientes, que incluyen LC-PUFA, DHA y ARA. En el primer informe de requerimiento de nutrientes e ingestas dietéticas

de lactantes y niños pequeños publicado en 2013, se definieron como ingestas adecuadas de LC-PUFA como 100 mg DHA/día y 140 mg ARA/día, desde el nacimiento hasta los 6 meses de edad, mientras que se consideró que 100 mg

### Se ha criticado mucho el consejo de proporcionar desde el nacimiento fórmula infantil que suministra DHA, pero sin ARA

DHA/día era adecuado desde los 6 hasta los 24 meses.[48] Estas conclusiones están en línea con muchos informes científicos, que incluyen las recomendaciones recientes del grupo de expertos apoyado por la *Early Nutrition Academy* que están basadas en una revisión sistemática de la evidencia científica disponible [34]. En contraste, el informe posterior publicado por EFSA sobre los requerimientos de composición de la fórmula infantil y de seguimiento aconsejó que todas las fórmulas infantiles y de seguimiento debían contener cantidades relativamente altas de DHA con 20 a 50 mg/100 kcal, pero sin la necesidad de proporcionar ARA preformada [49]. Esta concentración de DHA estipulada por EFSA y la nueva legislación europea es mucho mayor que la de 0.2 a 0.3% de DHA que se encuentra en la mayoría de las fórmulas enriquecidas con LC-PUFA para lactantes de término que se encuentran en el mercado alrededor del mundo, la cual por lo general contiene también ARA preformada en concentraciones iguales a, o a menudo 2 veces mayores que el contenido de DHA. La inclusión obligatoria propuesta de DHA en todas las fórmulas infantiles y de seguimiento es bienvenida por muchos científicos y pediatras en vista de las indicaciones para efectos benéficos [34], aunque el consejo de proporcionar la fórmula infantil que suministra DHA pero no ARA desde el nacimiento, se ha criticado mucho [50]. Durante el embarazo y la infancia, se depositan en relativamente grandes cantidades en los tejidos humanos, que incluyen el cerebro, tanto DHA como ARA [51, 52]. La acumulación fetal tanto de DHA como de ARA durante el embarazo se facilita por su transferencia activa y preferencial materno-fetal placentaria [53]. Las

concentraciones de DHA y ARA en los eritrocitos de las mujeres embarazadas se relacionaron de manera positiva con el IQ de sus hijos en edad escolar [54]. Al nacer, el contenido más alto de DHA y ARA en la sangre del cordón pronosticaba menos problemas conductuales, dificultades emocionales, hiperactividad y déficit de atención a los 10 años de edad [55]. Después del nacimiento, los lactantes alimentados al seno materno siempre reciben tanto DHA como ARA preformadas, por lo general con una provisión mayor de ARA que de DHA [31, 56]. Se han agregado DHA junto con ARA a las fórmulas infantiles desde la década de 1980 en un intento de acercarse al suministro de nutrientes y efecto funcionales logrados con la alimentación con leche materna [57-59]. El *Codex Alimentarius* global estándar sobre los requerimientos de composición para la fórmula infantil estipula la adición opcional de DHA a la fórmula infantil, siempre y cuando el contenido de ARA sea igual o mayor que el contenido de DHA, con lo que se sigue el modelo típico de la composición de la leche materna [60].

En muchos estudios comparativos en lactantes se han evaluado las fórmulas infantiles que proporcionan tanto DHA como ARA [34]. En contraste, la composición propuesta de fórmula para el lactante de término hasta con 1% de DHA y sin ARA es una estrategia nueva que no se ha probado de manera sistemática en cuanto a su idoneidad y seguridad en los lactantes sanos nacidos de término. ARA es un componente esencial de las membranas celulares. La cantidad de ARA incorporada en el desarrollo del cerebro durante la infancia supera el depósito de DHA. Aunque los humanos sintetizan ARA hasta cierto grado a partir del ácido linoleico, los lactantes alimentados con fórmula sin ARA preformado tienden a desarrollar menores concentraciones de ARA en el plasma sanguíneo y los eritrocitos que los lactantes que reciben tanto DHA como ARA [51, 57, 61]. En los lactantes prematuros, la provisión de grandes cantidades de omega-3 LC-PUFA sin un suministro concomitante de ARA se ha relacionado con efectos adversos en el crecimiento [62, 63]. Surgen otras preocupaciones con respecto a los efectos del suministro alto de DHA sin aumentar las ingestas de ARA en los lactantes, debido a los hallazgos de un estudio comparativo con asignación aleatoria que asignó a lactantes de término a una fórmula que proporcionaba LC-PUFA o diferentes concentraciones de 0.32, 0.64, y 0.96% de DHA con la misma concentración de ARA de 0.64% [64]. Los investigadores realizaron pruebas de desarrollo de los niños participantes hasta la edad de 6 años. Se observaron efectos positivos en las pruebas de producción de palabras, tareas de selección de cartas y una prueba de inteligencia con la dosis menor de DHA. Sin embargo, el desempeño de los niños asignados a la dosis alta de DHA de 0.96% pero con una reducción de la proporción de ARA dietético a DHA se atenuó en la *MBCDI Word Production Test* y la *Dimensional Change Card Sort Test* en la concentración más alta de DHA y se atenuó en las dos concentraciones más altas de DHA, en el *Peabody Picture Vocabulary Test* [64]. Así, en contraste con

lo que era de esperarse, un aumento, por arriba de 0.32%, del contenido de DHA en la fórmula, no mejoró, ni siquiera estabilizó los resultados de desarrollo, sino que en realidad tuvieron efectos adversos, los cuales tal vez se deban a la reducción en la proporción de ARA dietética a DHA, dada por las concentraciones más altas de DHA.

Se pusieron a prueba los efectos de las fórmulas equivalentes con contenidos similares de DHA y ARA, sobre el cerebro de mandriles lactantes. Se analizó la composición cerebral en diversas regiones. La fórmula con cerca de 1% de DHA indujo una tendencia a una menor concentración de ARA en la retina y las ocho regiones cerebrales analizadas, con una reducción significativa de los valores de ARA en el globo pálido y el colículo superior, aunque la fórmula contenía 0.64% de ARA. Estas observaciones hacen surgir graves inquietudes de que la fórmula con contenido alto de DHA pero falta de ARA tal vez induzca efectos adversos en la composición cerebral y funciones relacionadas.

Estos hallazgos en los lactantes humanos y primates no humanos ponen en duda la idoneidad y seguridad de los requerimientos de composición estipulados por la nueva legislación europea, es decir, proporcionar una fórmula infantil desde el nacimiento con hasta 1% de ácidos grasos como DHA sin un aumento proporcional en la ingesta de ARA. Por lo general se está de acuerdo en que cualquier cambio importante en la composición de la fórmula infantil debe someterse a una evaluación completa preclínica y clínica de la idoneidad nutricional y seguridad antes de su uso amplio y la introducción al mercado de esa fórmula modificada [65-70]. Por lo tanto, parece que es inadecuado y prematuro comercializar la fórmula para lactantes de término desde el nacimiento con 20 a 50 mg/100 kcal de DHA sin agregar ARA en ausencia de datos que den cuenta de la idoneidad y seguridad proveniente de una evaluación clínica minuciosa de esta estrategia novedosa [50].

---

***Parece inadecuado y prematuro  
comercializar la fórmula para lactantes  
de término, desde el nacimiento, con  
20 a 50 mg/100 kcal de DHA sin la  
adición de ARA***

---

### **Conclusión**

Además de satisfacer las necesidades de energía y vitaminas esenciales y PUFA, los lípidos de la leche materna proporcionan una mezcla de MFGM, lípidos complejos y compuestos bioactivos que desempeñan papeles biológicos importantes en el lactante alimentado al seno materno, por

ejemplo, con respecto al desarrollo de las funciones nerviosa e inmunitaria. Otros estudios que definan los componentes específicos responsables de tales efectos y los mecanismos subyacentes ayudarían a diseñar las mejores opciones de intervenciones nutricionales. El progreso metodológico en el campo de la metabolómica y lipidómica mediante el uso de cromatografía de líquidos aunada con una espectrometría triple ahora permite determinar perfiles detallados de especies moleculares de lípidos complejos en la leche, así como en volúmenes de muestras en extremo pequeñas de suero o plasma de lactantes (p. ej., 10 mL) con una alta precisión cuantitativa [71-74]. Tales mediciones lipidómicas sirven para proporcionar marcadores de composición tisular [75] y se ha mostrado que están relacionadas con criterios de valoración clínicos importantes en niños y adultos [76-78]. Por lo tanto, es probable que el uso de estos métodos analíticos sofisticados y detallados, si se combinan con estrategias de bioinformática adecuadas, proporcionen la oportunidad de obtener mejor conocimiento de los papeles fisiológicos de los lípidos complejos, al principio de la vida, lo cual provocaría mejorías en las estrategias nutricionales. El progreso en la biotecnología y la tecnología de alimentos ofrece nuevos caminos para preparar los componentes lípidos que imiten más cercanamente el cuerpo de lípidos complejos que se proporciona con la alimentación al seno materno. La exploración cuidadosa y la evaluación del impacto en los lactantes,

a corto y mediano plazo, es posible que llevaría a la implementación de mejorías importantes para la alimentación de los lactantes a quienes no es posible alimentar con leche materna. Existe también la oportunidad de mejorar nuestra comprensión del suministro óptimo de LC-PUFA en la infancia temprana y tardía y en los mecanismos subyacentes y mediadores de sus efectos, p.ej., en el desarrollo neural y conductual, los resultados de salud mediados por inmunidad, como alergia y asma y la función pulmonar.

## Agradecimientos

El trabajo del autor recibe apoyo financiero en parte por la *Commission of the European Community, the 7th Framework Programme Early Nutrition (FP7-289346), the Horizon 2020 Research and Innovation Programme DYNHEALTH (No 633595 y el European Research Council Advanced Grant METAGROWTH (ERC-2012-AdG, No. 322605)*. Este manuscrito no refleja necesariamente los puntos de vista de la *Commission* y en ninguna manera anticipa la política futura en esta área.

## Declaración

El autor declara que no existe conflicto de interés financiero ni de otro tipo en relación con el contenido de este artículo. La producción de este trabajo recibió apoyo mediante una donación proporcionada por el Nestlé Nutrition Institute.

## Referencias

- Koletzko B, Agostoni C, Bergmann R, Ritzenthaler K, Shamir R: Physiological aspects of human milk lipids and implications for infant feeding: a workshop report. *Acta Paediatr* 2011;100:1405-1415.
- Delplanque B, Gibson R, Koletzko B, Lapillonne A, Strandvik B: Lipid quality in infant nutrition: current knowledge and future opportunities. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;61:8-17.
- Krohn K, Demmelmair H, Koletzko B: Macronutrient requirements for growth: fats and fatty acids; in Duggan C, Watkins JB, Koletzko B, Walker WA (eds): *Nutrition in Pediatrics*, ed 5. Raleigh, People's Medical Publishing House, 2016, in press.
- Grote V, Verduci E, Scaglioni S, Vecchi F, Contarini G, Giovannini M, et al: Breast milk composition and infant nutrient intakes during the first 12 months of life. *Eur J Clin Nutr* 2016;70:250-256.
- Michaelsen KF, Skafta L, Badsberg JH, Jørgensen M: Variation in macronutrients in human bank milk: influencing factors and implications for human milk banking. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;11:229-239.
- Koletzko B, Rodríguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Sauerwald T: Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum Dev* 2001;65(suppl):S3-S18.
- Michaelsen KF, Larsen PS, Thomsen BL, Samuelson G: The Copenhagen Cohort Study on Infant Nutrition and Growth: breast-milk intake, human milk macronutrient content, and influencing factors. *Am J Clin Nutr* 1994;59:600-611.
- Keating EM, Curtis BA, Slusher TM: Maternal milk volume and breast milk expression: implications for diet and nutrition in infants; in Zibadi S, Watson RR, Preezy VR (eds): *Handbook of Dietary and Nutritional Aspects of Human Breast Milk*. Wageningen, Wageningen Academic Publishers, 2013, pp 193-213.
- Hernell O, Timby N, Domellof M, Lonnerdal B: Clinical benefits of milk fat globule membranes for infants and children. *J Pediatr* 2016;173(suppl):S60-S65.
- Giuffrida F, Cruz-Hernandez C, Fluck B, Tavazzi I, Thakkar SK, Destailats F, et al: Quantification of phospholipids classes in human milk. *Lipids* 2013;48:1051-1058.
- Tanaka K, Hosozawa M, Kudo N, Yoshikawa N, Hisata K, Shoji H, et al: The pilot study: sphingo-
- myelin-fortified milk has a positive association with the neurobehavioural development of very low birth weight infants during infancy, randomized control trial. *Brain Dev* 2013; 35:45-52.
- Gurnida DA, Rowan AM, Idjradinata P, Muchtadi D, Sekarwana N: Association of complex lipids containing gangliosides with cognitive development of 6-month-old infants. *Early Hum Dev* 2012;88:595-601.
- Zavaleta N, Kvistgaard AS, Graverholt G, Respicio G, Gujja H, Valencia N, et al: Efficacy of an MFGM-enriched complementary food in diarrhea, anemia, and micronutrient status in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53:561-568.
- Veereman-Wauters G, Staelens S, Rombaut R, Dewettinck K, Deboutte D, Brummer RJ, et al: Milk fat globule membrane (INPULSE) enriched formula milk decreases febrile episodes and may improve behavioral regulation in young children. *Nutrition* 2012;28:749-752.
- Timby N, Hernell O, Vaarala O, Melin M, Lonnerdal B, Domellof M: Infections in infants fed formula supplemented with bovine milk fat globule membranes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;60:384-389.

16. Timby N, Domellof E, Hernell O, Lonnerdal B, Domellof M: Neurodevelopment, nutrition, and growth until 12 mo of age in infants fed a low-energy, low-protein formula supplemented with bovine milk fat globule membranes: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2014;99:860–868.
17. Mutemberezi V, Guillemot-Legris O, Muccioli GG: Oxysterols: From cholesterol metabolites to key mediators. *Prog Lipid Res* 2016;64:152–169.
18. Kinney HC, Karthigasan J, Borenshteyn NI, Flax JD, Kirschner DA: Myelination in the developing human brain: biochemical correlates. *Neurochem Res* 1994;19:983–996.
19. Cartocci V, Servadio M, Trezza V, Pallottini V: Can cholesterol metabolism modulation affect brain function and behavior? *J Cell Physiol* 2016;232:281–286.
20. Shamir R, Nganga A, Berkowitz D, Diamond E, Lischinsky S, Lombardo D, et al: Serum levels of bile salt-stimulated lipase and breast feeding. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003;16:1289–1294.
21. Wong WW, Hachey DL, Insull W, Opekun AR, Klein PD: Effect of dietary cholesterol on cholesterol synthesis in breast-fed and formula-fed infants. *J Lipid Res* 1993;34:1403–1411.
22. Devlin AM, Innis SM, Shukin R, Rioux MF: Early diet influences hepatic hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase and 7 $\alpha$ -hydroxylase mRNA but not low-density lipoprotein receptor mRNA during development. *Metabolism* 1998;47:20–26.
23. Cruz ML, Wong WW, Mimouni F, Hachey DL, Setchell KD, Klein PD, et al: Effects of infant nutrition on cholesterol synthesis rates. *Pediatr Res* 1994;35:135–140.
24. Owen CG, Whincup PH, Odoki K, Gilg JA, Cook DG: Infant feeding and blood cholesterol: a study in adolescents and a systematic review. *Pediatrics* 2002;110:597–608.
25. Owen CG, Whincup PH, Kaye SJ, Martin RM, Davey Smith G, Cook DG, et al: Does initial breastfeeding lead to lower blood cholesterol in adult life? A quantitative review of the evidence. *Am J Clin Nutr* 2008;88:305–314.
26. Ip S, Chung M, Raman G, Chew P, Magula N, DeVine D, Trikalinos T, Lau J: Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2007;(153):1–186.
27. ESPGHAN Committee on Nutrition, Agostoni C, Braegger C, Decsi T, Kolacek S, Koletzko B, et al: Breast-feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49:112–125.
28. Carnielli VP, Luijendijk IH, Van Goudoever JB, Sulkers EJ, Boerlage AA, Degenhart HJ, et al: Structural position and amount of palmitic acid in infant formulas: effects on fat, fatty acid, and mineral balance. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996;23:553–560.
29. Ailhaud G, Massiera F, Weill P, Legrand P, Alessandri JM, Guesnet P: Temporal changes in dietary fats: role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Prog Lipid Res* 2006;45:203–236.
30. Demmelmair H, Baumheuer M, Koletzko B, Dokoupil K, Kratl G: Metabolism of U13C-labeled linoleic acid in lactating women. *J Lipid Res* 1998;39:1389–1396.
31. Brenna JT, Varamini B, Jensen RG, Diersen-Schade DA, Boettcher JA, Arterburn LM: Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast milk worldwide. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1457–1464.
32. Del Prado M, Villalpando S, Elizondo A, Rodriguez M, Demmelmair H, Koletzko B: Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *Am J Clin Nutr* 2001;74:242–247.
33. Fidler N, Sauerwald T, Pohl A, Demmelmair H, Koletzko B: Docosahexaenoic acid transfer into human milk after dietary supplementation: a randomized clinical trial. *J Lipid Res* 2000;41:1376–1383.
34. Koletzko B, Boey CCM, Campoy C, Carlson SE, Chang N, Guillermo-Tuazon MA, et al: Current information and Asian perspectives on long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy. Systematic review and practice recommendations from an Early Nutrition Academy workshop. *Ann Nutr Metab* 2014;65:49–80.
35. Novak EM, Dyer RA, Innis SM: High dietary omega-6 fatty acids contribute to reduced docosahexaenoic acid in the developing brain and inhibit secondary neurite growth. *Brain Res* 2008;1237:136–145.
36. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: DHA and ARA and visual development – scientific substantiation of a health claim related to docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (ARA) and visual development pursuant to Article14 of Regulation (EC) No 1924/2006[1]. *EFSA J* 2009;9:41:1–14.
37. Qawasmi A, Landeros-Weisenberger A, Bloch MH: Meta-analysis of LCPUFA supplementation of infant formula and visual acuity. *Pediatrics* 2013;131:e262–e272.
38. Qawasmi A, Landeros-Weisenberger A, Leckman JF, Bloch MH: Meta-analysis of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of formula and infant cognition. *Pediatrics* 2012;129:1141–1149.
39. Glaser C, Heinrich J, Koletzko B: Role of FADS1 and FADS2 polymorphisms in polyunsaturated fatty acid metabolism. *Metabolism* 2010;59:993–999.
40. Glaser C, Lattka E, Rzehak P, Steer C, Koletzko B: Genetic variation in polyunsaturated fatty acid metabolism and its potential relevance for human development and health. *Matern Child Nutr* 2011;7(suppl 2):27–40.
41. Lattka E, Illig T, Koletzko B, Heinrich J: Genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster as related to essential fatty acid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2010;21:64–69.
42. Lattka E, Rzehak P, Szabo E, Jakobik V, Weck M, Weyermann M, et al: Genetic variants in the FADS gene cluster are associated with arachidonic acid concentrations of human breast milk at 1.5 and 6 mo postpartum and influence the course of milk docosanoic, tetracosanoic, and trans-9-octadecenoic acid concentrations over the duration of lactation. *Am J Clin Nutr* 2011;93:382–391.
43. Steer CD, Davey Smith G, Emmett PM, Hibbeln JR, Golding J: FADS2 polymorphisms modify the effect of breastfeeding on child IQ. *PLoS One* 2010;5:e11570.
44. Morales E, Bustamante M, Gonzalez JR, Guxens M, Torrent M, Mendez M, et al: Genetic variants of the FADS gene cluster and ELOVL gene family, colostrums LC-PUFA levels, breastfeeding, and child cognition. *PLoS One* 2011;6:e17181.
45. Jensen CL, Maude M, Anderson RE, Heird WC: Effect of docosahexaenoic acid supplementation of lactating women on the fatty acid composition of breast milk lipids and maternal and infant plasma phospholipids. *Am J Clin Nutr* 2000;71(1 suppl):292S–95S.
46. Standl M, Sausenthaler S, Lattka E, Koletzko S, Bauer CP, Wichmann HE, et al: FADS gene cluster modulates the effect of breastfeeding on asthma. Results from the GINIplus and LISAPlus studies. *Allergy* 2012;67:83–90.
47. European Commission: Commission Delegated Regulation (EU) 2016/127 of 25 September 2015 supplementing Regulation (EU) No 609/2013 of the European Parliament and of the Council as regards the specific compositional and information requirements for infant formula and follow-on formula and as regards requirements on information relating to infant and young child feeding. *Official Journal of the European Union* 2016:L25/1.
48. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific opinion on nutrient requirements and dietary intakes of infants and young children in the European Union. *EFSA J* 2013;11:3408.
49. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. *EFSA J* 2014;12:106.
50. Koletzko B, Carlson SE, van Goudoever JB: Should infant formula provide both omega-3 DHA and omega-6 arachidonic acid? *Ann Nutr Metab* 2015;66:137–138.
51. Makrides M, Neumann MA, Byard RW, Simmer K, Gibson RA: Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1994;60:189–194.
52. Martinez M: Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr* 1992;120:S129–S138.
53. Larque E, Ruiz-Palacios M, Koletzko B: Placental regulation of fetal nutrient supply. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013;16:292–297.
54. Steer CD, Lattka E, Koletzko B, Golding J, Hibbeln JR: Maternal fatty acids in pregnancy, FADS polymorphisms, and child intelligence quotient at 8 y of age. *Am J Clin Nutr* 2013;98:1575–1582.



55. Kohlboeck G, Glaser C, Tiesler C, Demmelmair H, Standl M, Romanos M, et al: Effect of fatty acid status in cord blood serum on children's behavioral difficulties at 10 y of age: results from the LISApus Study. *Am J Clin Nutr* 2011;94:1592–1599.
56. Demmelmair H, Koletzko B: Importance of fatty acids in the perinatal period. *World Rev Nutr Diet* 2015;112:31–47.
57. Koletzko B, Schmidt E, Bremer HJ, Haug M, Harzer G: Effects of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids on the essential fatty acid status of premature infants. *Eur J Pediatr* 1989;148:669–675.
58. Carlson SE, Cooke RJ, Rhodes PG, Peeples JM, Werkman SH: Effect of vegetable and marine oils in preterm infant formulas on blood arachidonic and docosahexaenoic acids. *J Pediatr* 1992;120:S159–S167.
59. Makrides M, Neumann MA, Simmer K, Gibson RA: Erythrocyte fatty acids of term infants fed either breast milk, standard formula, or formula supplemented with long-chain polyunsaturates. *Lipids* 1995;30:941–948.
60. Codex Alimentarius Commission: Standard for infant formula and formulas for special medical purposes intended for infants. *Codex Stan 72 – 1981*. Rome, Codex Alimentarius Commission 2007, pp 1–21.
61. Koletzko B, Sauerwald T, Demmelmair H, Herzog M, von Schenck U, Bohles H, et al: Dietary long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in infants with phenylketonuria: a randomized controlled trial. *J Inherit Metab Dis* 2007;30:326–332.
62. Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM, Cooke RJ, Tolley EA: Arachidonic acid status correlates with first year growth in preterm infants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1073–1077.
63. Carlson SE, Cooke RJ, Werkman SH, Tolley EA: First year growth of preterm infants fed standard compared to marine oil n-3 supplemented formula. *Lipids* 1992;27:901–907.
64. Colombo J, Carlson SE, Cheatham CL, Shaddy DJ, Kerling EH, Thodosoff JM, et al: Long-term effects of LCPUFA supplementation on childhood cognitive outcomes. *Am J Clin Nutr* 2013;98:403–412.
65. Committee on the Evaluation of the Addition of Ingredients New to Infant Formula, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine: *Infant Formula. Evaluating the Safety of New Ingredients*. Washington, The National Academy Press, 2001.
66. ESPGHAN Committee on Nutrition, Aggett PJ, Agostini C, Goulet O, Hernell O, Koletzko B, et al: The nutritional and safety assessment of breast milk substitutes and other dietary products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;32:256–258.
67. Koletzko B, Ashwell M, Beck B, Bronner A, Mathioudakis B: Characterisation of infant food modifications in the European Union. *Ann Nutr Metab* 2002;46:231–242.
68. Koletzko B, Szajewska H, Ashwell M, Shamir R, Aggett P, Baerlocher K, et al: Documentation of functional and clinical effects of infant nutrition: setting the scene for COMMENT. *Ann Nutr Metab* 2012;60:222–232.
69. Koletzko B, Shamir R, Ashwell M: Quality and safety aspects of infant nutrition. *Ann Nutr Metab* 2012;60:179–184.
70. European Commission, Scientific Committee on Food; Koletzko B, Saris WH, Flynn A, Palou A, Wal JM, et al: Report of the Scientific Committee on Food on the Revision of Essential Requirements of Infant Formulae and Follow-on Formulae. Brussels, European Commission, 2003.
71. Uhl O, Hellmuth C, Demmelmair H, Zhou SJ, Makrides M, Prosser C, et al: Dietary effects on plasma glycerophospholipids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;61:367–372.
72. Uhl O, Glaser C, Demmelmair H, Koletzko B: Reversed phase LC/MS/MS method for targeted quantification of glycerophospholipid molecular species in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011; 879: 3556–3564.
73. Hellmuth C, Uhl O, Segura-Moreno M, Demmelmair H, Koletzko B: Determination of acylglycerols from biological samples with chromatography-based methods. *J Sep Sci* 2011; 34:3470–3483.
74. Hellmuth C, Weber M, Koletzko B, Peissner W: Nonesterified fatty acid determination for functional lipidomics: comprehensive ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry quantitation, qualification, and parameter prediction. *Anal Chem* 2012;84:1483–1490.
75. Hellmuth C, Demmelmair H, Schmitt I, Peissner W, Bluhner M, Koletzko B: Association between plasma nonesterified fatty acids species and adipose tissue fatty acid composition. *PLoS One* 2013;8:e74927.
76. Rauschert S, Uhl O, Koletzko B, Kirchberg F, Mori TA, Huang RC, et al: Lipidomics reveals associations of phospholipids with obesity and insulin resistance in young adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:871–879.
77. Reinehr T, Wolters B, Knop C, Lass N, Hellmuth C, Harder U, et al: Changes in the serum metabolite profile in obese children with weight loss. *Eur J Nutr* 2015;54:173–181.
78. Rzehak P, Hellmuth C, Uhl O, Kirchberg FF, Peissner W, Harder U, et al: Rapid growth and childhood obesity are strongly associated with LysoPC(14: 0). *Ann Nutr Metab* 2014;64: 294–303.
79. Khan S, Hepworth AR, Prime DK, Lai CT, Trengove NJ, Hartmann PE: Variation in fat, lactose, and protein composition in breast milk over 24 hours: associations with infant feeding patterns. *J Hum Lact* 2013;29:81–89.

## El beneficio inmunitario de la alimentación al seno materno se ha atribuido en parte a los diversos componentes bioactivos en la leche materna

Reimpreso con permiso de: *Ann Nutr Metab* 2016;69(suppl 2):42 – 51

### Los oligosacáridos de la leche materna influyen en la inmunidad sistémica y de las mucosas neonatales

Por Sharon M. Donovan y Sarah S. Comstock

#### Información clave

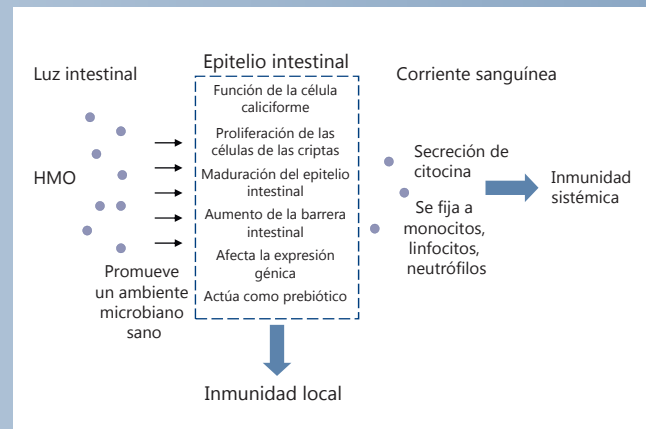
La leche materna confiere múltiples capas de protección al recién nacido al proporcionarle componentes bioactivos que protegen al lactante de infección por patógenos, facilitan el desarrollo intestinal e inmunitario y apoyan los microbios intestinales sanos. Un importante componente bioactivo de la leche materna son los oligosacáridos de la leche materna (HMO, human milk oligosaccharides). Los HMO son una mezcla compleja de hidratos de carbono indigeribles con un alto grado de diversidad estructural y representan uno de los grupos más grandes de componentes activos en la leche materna.

#### Conocimiento actual

Los HMO son una familia de glucanos solubles que están sialilados o fucosilados y proporcionan fuentes de carbono para las especies bacterianas que colonizan a los lactantes alimentados al seno materno. A través de sus acciones sobre el intestino los HMO afectan directa o indirectamente la mucosa de los lactantes y la inmunidad sistémica. En un gran número de estudios se ha demostrado que los HMO influyen en la proliferación y maduración de las células intestinales (como las células de las criptas y las células caliciformes). Además, los HMO modulan la expresión génica en el epitelio intestinal. Todo esto afecta la función de la barrera intestinal, la cual a su vez regula la inmunidad local y sistémica.

#### Implicaciones prácticas

La leche materna contiene una mayor concentración y diversidad estructural, así como grado de fucosilación, en comparación con los oligosacáridos en otras especies, que incluyen la leche de vaca a partir de la cual se derivan las fórmulas infantiles. Los HMO producidos comercialmente son cada vez más fáciles de conseguir y la evidencia indica que la complementación de la fórmula



A través de diversas acciones sobre la función intestinal y el microbioma intestinal los oligosacáridos de la leche materna (HMO) modulan la inmunidad local y sistémica del lactante.

infantil con HMO es segura y benéfica para los lactantes humanos. Existen también posibles aplicaciones de los HMO como tratamientos profilácticos y terapéuticos para quienes están inmunocomprometidos y con un alto riesgo de infección.

#### Lectura recomendada

Kulinich A, Liu L: Human milk oligosaccharides: the role in the fine-tuning of innate immune responses. *Carbohydr Res* 2016;432:62–70.

# Los oligosacáridos de la leche materna influyen en la inmunidad de la mucosa neonatal y la inmunidad sistémica

Sharon M. Donovan<sup>a</sup> Sarah S. Comstock<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciencia de los alimentos y Nutrición Humana, University of Illinois, Urbana, IL, y <sup>b</sup> Departamento de Ciencia de los alimentos y Nutrición Humana, Michigan State University, East Lansing, MI, EUA

## Mensajes clave

- Los oligosacáridos de la leche materna (HMO, *human milk oligosaccharides*) son un componente predominante de la leche materna y están compuestos de diversas estructuras que son neutrales, ácidas y algunas formas son sialiladas o fucosiladas, lo cual contribuye a sus funciones biológicas.
- Los HMO protegen al lactante de las infecciones patógenas, facilitan el establecimiento de la microbiota intestinal, promueven el desarrollo intestinal y estimulan la maduración inmunitaria.
- Algunos tipos de HMO se encuentran ya en el comercio y se agregan a la fórmula infantil solos o en combinación con otros prebióticos

## Palabras clave

Oligosacáridos en la leche materna · Inmunidad · Lactante

## Resumen

El sistema inmunitario del lactante es funcionalmente inmaduro y no ha tenido contacto con antígenos. La leche materna contiene proteínas bioactivas, lípidos e hidratos de carbono que protegen al recién nacido y estimulan el desarrollo inmunitario innato y de adaptación. Esta revisión se enfocará en el papel que desempeñan los oligosacáridos de la leche materna (HMO) en el desarrollo y las funciones del sistema gastrointestinal neonatal y de la in-

munidad sistémica. Durante la última década se ha dirigido investigación intensa a la definición de la complejidad de los oligosacáridos de la leche en muchas especies y se empiezan a delinear sus funciones. En estos estudios se ha demostrado que la leche materna contiene una concentración más alta, así como una mayor diversidad estructural y grado de fucosilación que los oligosacáridos de la leche en otras especies, en particular la leche de bovino, a partir de la cual se producen las fórmulas infantiles. La disponibilidad comercial de grandes cantidades de ciertos HMO ha ampliado nuestra comprensión de las funciones de HMO específicos, las cuales incluyen la protección del lactante de infecciones patógenas, facilitar el establecimiento de la microbiota intestinal, promover el desarrollo intestinal y estimular la maduración inmunitaria. Muchas de estas acciones se ejercen a través de interacciones de hidrato de carbono-hidrato de carbono con los patógenos o células del huésped. En fechas recientes se han agregado 2 HMO a la fórmula infantil, la 2'-fucosilactosa (2'FL) y la lacto-N-neotetraosa (LNnT). Aunque es un primer paso para reducir la brecha de composición entre la leche materna y la fórmula infantil, no está del todo claro si uno o dos HMO resumen la complejidad de las acciones ejercidas por la compleja mezcla de HMO ingerida por los lactantes alimentados al seno materno. Por consiguiente, conforme un mayor número de HMO se comercialice, ya sea aisladas de la leche de bovino o sintetizadas de manera química o microbiológica, se anticipa que se agregarán más oligosacáridos a la fórmula infantil ya sea solos o en combinación con otros prebióticos.

2017 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basilea

## Antecedentes

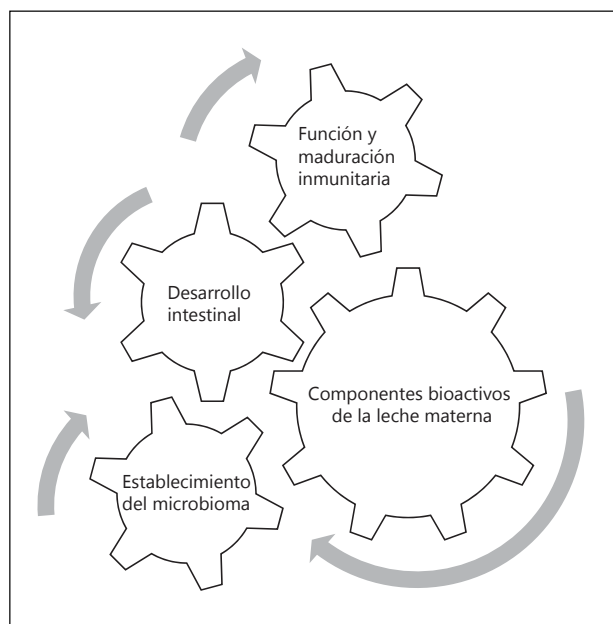
El lactante entra al mundo con un sistema inmunitario funcionalmente virgen que afecta las respuestas tanto de adaptación como las innatas [1], lo cual deja al recién nacido con un alto riesgo de infecciones frecuentes. La maduración inmunitaria posnatal se estimula mediante las exposiciones antigénicas y las interacciones huésped-microbios [1, 2]. La forma y el contenido de aquello con lo que se alimenta al lactante influye en el desarrollo y competencia del sistema inmunitario [3-5]. La leche materna protege al lactante durante este periodo vulnerable al proporcionarle componentes bioactivos que lo protegen de la infección por patógenos, apoyan el desarrollo intestinal, facilitan la tolerancia inmunitaria y alimentan a los microbios intestinales [2-5]. De este modo, la leche materna suministra capas de protección múltiples para el lactante (Figura 1.).

La alimentación al seno materno, en particular la exclusiva, durante 6 meses o más, disminuye la incidencia y/o gravedad de las enfermedades infecciosas, en comparación con la alimentación con fórmula [6]. Muchas enfermedades con componentes de etiología infecciosa e inmunitaria, que incluyen diarrea, infecciones de vías respiratorias y urinarias, otitis media, bacteriemia y enterocolitis necrosante, ocurren con menos frecuencia en los lactantes alimentados con leche materna que en los alimentados con fórmula [6, 7]. También se ha implicado la alimentación al seno materno en la reducción de la incidencia de otras enfermedades que afectan el sistema inmunitario y la tolerancia inmunitaria, como la enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celíaca, asma, alergia, diabetes tipo 1, así como las leucemias linfoblástica aguda y mieloblástica aguda [6, 8]. Estos beneficios están mediados, en parte, a través de efectos de la alimentación al seno materno en la microbiota intestinal [8, 9], lo que a su vez estimula la maduración y especificidad de la mucosa neonatal y el sistema inmunitario sistémico [2].

El beneficio inmunitario de la alimentación al seno materno se ha atribuido en parte a los diversos componentes bioactivos que se encuentran en la leche materna [2-5]. Un ejemplo importante es el papel clave de los oligosacáridos de la leche materna (HMO) en la defensa inmunitaria y maduración del recién nacido. Como se describirá a continuación, los HMO están presentes en altas concentraciones en la leche materna, existen con una diversidad estructural increíble, [10-13] confieren protección al huésped y median las respuestas inmunitarias a través de varios mecanismos. [14,15]

## Contenido y composición de los HMO

Los HMO son glucanos solubles complejos, que están presentes en la leche, sobre todo en su forma libre. Estos glucanos se sintetizan a partir de cinco monosacáridos básicos: galactosa, glucosa, N-acetilglucosamina, fucosa y el derivado del ácido siálico, ácido N-acetilneuramínico [10, 11]. Con



**Figura 1.** Es probable que la leche materna orqueste el desarrollo gastrointestinal, inmunitario y de la microbiota. El ecosistema intestinal representa un complejo ambiente interactivo en el cual la leche materna influye en el desarrollo intestinal, el establecimiento de la microbiota intestinal y la maduración del sistema inmunitario de la mucosa intestinal y sistémico. A su vez, las señales de la microbiota estimulan la maduración y especificidad de los sistemas inmunitarios de la mucosa y sistémicos. Además, el sistema inmunitario y la microbiota promueven el desarrollo intestinal. La leche materna contiene nutrientes bioactivos y otros componentes que son moduladores de estos procesos, de los cuales los oligosacáridos son un componente clave.

pocas excepciones, todos los HMO llevan lactosa ( $\text{Gal}\beta 1-4\text{Glc}$ ) en el extremo reductor, el cual se alarga en unión  $\beta 1-3$  o  $\beta 1-6$  mediante dos diferentes disacáridos, ya sea  $\text{Gal}\beta 1-3\text{GlcNAc}$  (cadena tipo 1) o  $\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}$  (cadena tipo 2) [11].

Se ha informado que el contenido de HMO se encuentra en el rango de 1 a 10 g/L en la leche madura y 15 a 23 g/L en el calostro [10-13]. En la leche materna de término, ~ 35 a 50% de los HMO es fucosilado, 12 a 14% es sialilado y 42 a 55% es HMO neutral no fucosilado (Cuadro 1) [10-13]. Sin embargo, la composición de los HMO está influenciada por la genética materna, que incluye el estado secretor y el grupo sanguíneo de Lewis [10,11]. La fucosilación del HMO está mediada por las dos fucosiltransferasas FUT2 (gen secretor) y FUT3 (gen de Lewis). Las madres no secretoras, que carecen de una enzima FUT2 funcional y representan cerca de 30% de las mujeres en el mundo entero, producen leche que carece de oligosacáridos  $\alpha 1-2$ -fucosilados, como 2'-fucosilactosa (2'FL) y lacto-N-fucopentosa (LNFP) I [10, 11]. La ausencia de estos compuestos tiene consecuencias funcionales. Por ejemplo, los lactantes que consumen leche producida

**Cuadro 1.**  
Concentraciones de los principales HMO en la leche materna [10-13]

Categorías de HMO (% del total)	Oligosacárido	Concentración promedio (rango), g/L
Fucosilado (35 a 50%)	2'FL	2.7 (1.88 a 4.9)
	3'FL	0.5 (0.25 a 0.86)
	LNFP I	0.122 (0.106 a 0.145)
	LNFP II + III	0.156 (0.120 a 0.161)
Sialilado (12 a 14%)	3'SL	0.2 (0.1 a 0.3)
	6'SL	0.5 (0.2 a 1.22)
Neutral no fucosilado (42 a 55%)	LNnT	0.3 (0.17 a 0.45)

2'FL, 2'-fucosil-lactosa; 3'SL, 3'-sialil-lactosa; 6'SL, 6'-sialil-lactosa; HMO, oligosacáridos de la leche materna (*human milk oligosaccharides*); LNFP, lacto-N-fucopentaosa; LNnT, lacto-N-neotetraosa.

por mujeres que no son secretoras presentan una colonización retardada de bifidobacterias, una mayor abundancia de taxa *Streptococcus*, y tienen diferencias funcionales en la actividad metabólica de su microbiota [16]. Los lactantes alimentados de leche proveniente de madres no secretoras tienen mayor riesgo de enfermedades diarreicas [17].

### Los HMO y el microbioma

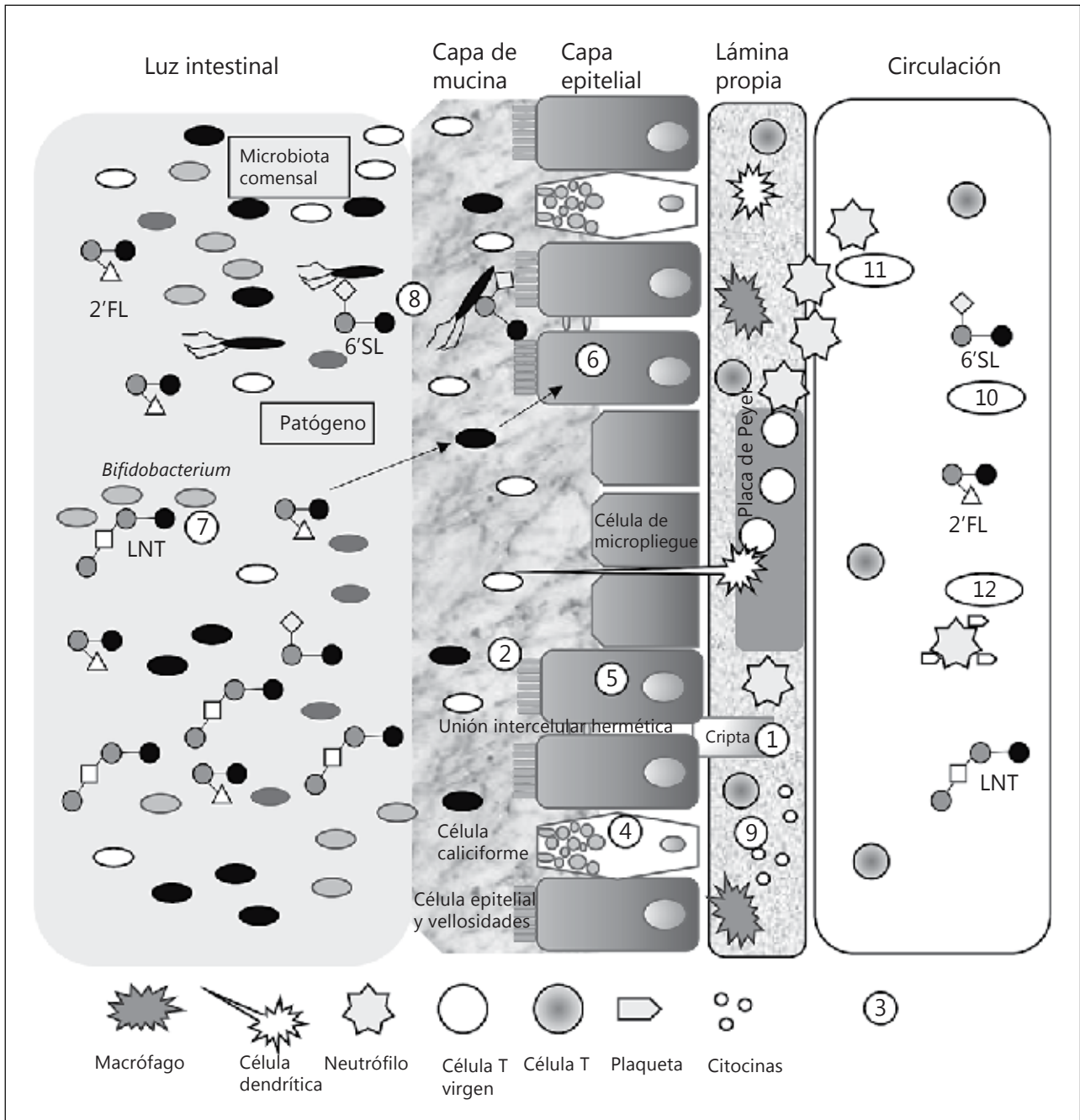
El desarrollo del microbioma intestinal del lactante es un proceso secuencial que empieza y continúa durante los primeros 2 a 3 años de vida. La composición y diversidad microbiana se forma por la genética del huésped y múltiples factores ambientales, de los cuales la dieta es un contribuyente importante [8, 9]. En los estudios realizados durante la última década se ha mostrado que las especies específicas de *Bacteroides* y *Bifidobacterium* que colonizan con frecuencia a los lactantes alimentados al seno materno, utilizan de manera efectiva los HMO como fuente de carbono. Esto es particularmente cierto de *B. longum* ssp. *Infantis* (*B. infantis*), el cual es un microbio predominante del intestino en la mayoría de los lactantes alimentados al seno materno [18]. El descubrimiento de una isla genómica en *B. infantis* que codifica enzimas específicas para el metabolismo de HMO apoya una adaptación de esta especie al medio intestinal del lactante amamantado [18, 19]. En efecto, en un estudio reciente en lactantes alimentados al seno materno complementado con 2'FL 81 g/L y LNnT (0.5 g/L) se demostró que la composición global de la microbiota de los lactantes alimentados con fórmula con 2'FL y LNnT era significativamente diferente de la de los lactantes alimentados con fórmula no complementada ( $p < 0.001$ ), en el nivel de género y más cercana a la de los lactantes alimentados al seno materno a los 3 meses de edad [20]. Además, *Bifidobacterium* era más abundante ( $p < 0.01$ ), mientras que *Escherichia* y *Peptostreptococcaceae* no clasificados eran menos abundantes en los lactantes alimentados con fórmula con 2'FL y LNnT en comparación con los lactantes alimentados con fórmula no complementada, y estas concentraciones eran más cercanas a las observadas en los lactantes alimentados al seno materno [20]. Asimismo, las concentraciones de varios metabolitos importantes en las

heces (propionato, butirato y lactato eran más similares a los de los lactantes alimentados al seno materno [20]).

En ocasiones previas, se ha demostrado que la fermentación de los HMO mediante microbiota de cerdo recién nacido producía ácidos grasos de cadena corta y promovían el crecimiento de bacterias benéficas *in vitro* [21] e *in vivo* [22]. Las bacterias del intestino y la respuesta inmunitaria, en particular la gastrointestinal, están interrelacionadas en forma estrecha [23]. Así, en este modelo animal, los cambios inducidos por los HMO en las poblaciones bacterianas del intestino de cerdos alteraría el curso de una infección intestinal [24], la cual a su vez alteraría la respuesta inmunitaria [22]. Alternativamente, el cambio en las bacterias intestinales afectaría directamente el sistema inmunitario de estos animales [2]. En la siguiente sección se resumen formas adicionales por las cuales los HMO median la inmunidad del recién nacido.

### Los HMO como inmunomoduladores

En la Figura 2 se resumen los resultados de un cuerpo de evidencia acumulado que muestra que los HMO influyen e manera directa e indirecta la función inmunitaria de la mucosa y sistémica del lactante. En general, la salud intestinal y la función de barrera se consideran como la primera línea de defensa en la inmunidad innata. La proliferación celular se lleva a cabo en las criptas, y las células se diferencian conforme emigran hacia arriba por el eje de las criptas vellosas, con excepción de las células de Paneth, que migran hacia abajo hasta la base de la cripta. Los HMO reducen la proliferación de células de las criptas intestinales [25, 26], aumentan la maduración celular [26], y aumentan la función de barrera [26] (indicado con 1 al 3 de la figura 2). Una capa formada por glucoproteínas mucosas o mucinas producidas por las células caliciformes actúa como lubricante y una barrera física de protección entre el epitelio intestinal y el contenido de la luz intestinal (indicada por 4 en la figura 2). Los HMO influyen la función de la célula caliciforme, como se ha mostrado para los galacto-oligosacáridos (GOS) [27]. Los HMO afectan la expresión génica inmunitaria epitelial en forma tanto directa [28-30] como indirecta a través de la microbiota [31]



**Figura 2.** Posibles mecanismos por medio de los cuales los oligosacáridos de la leche materna (HMO) influyen la función inmunitaria del huésped. HMO afecta la inmunidad innata a través de la barrera epitelial; el HMO reduce la proliferación de la célula de la cripta (1), aumenta la maduración de las células intestinales (2), aumenta la función de barrera (3) y es posible que influya en la función de la célula caliciforme (4), como se ha demostrado para los galacto-oligosacáridos. Además, los HMO afectan la expresión génica inmunitaria epitelial tanto en forma directa (5) como indirecta a través de la microbiota (6). Los HMO sir-

ven como prebióticos para promover el crecimiento de bacterias sanas, que incluyen las especies *Bifidobacterium* y *Bacteroides* (7), y los HMO inhiben las infecciones por bacterias y virus, ya sea fijándolos en la luz intestinal o mediante la inhibición de la fijación a los receptores glicanos de la superficie celular (8). Los HMO afectan las poblaciones de células inmunitarias y la secreción de citocina (9). Los HMO se absorben también hacia la sangre (10), en donde afectan la fijación de monocitos, linfocitos y neutrófilos a las células endoteliales (11) y la formación de complejos plaqueta-neutrófilo (12).

(indicado con 5 y 6 en la figura 2, respectivamente). Como se observó antes, los HMO sirven como prebióticos para promover el crecimiento de bacterias sanas que incluyen los géneros *Bifidobacteria* y *Bacteroides* [32] (indicado con 7 en la Figura 2) y los HMO inhiben las infecciones por bacterias y virus, ya sea fijando al patógeno en la luz intestinal o al inhibir su fijación a los receptores glucanos de la superficie celular [14-15, 22] (indicado con 8 en la figura 2). Además, los oligosacáridos dietéticos enriquecen el revestimiento intestinal con lo que contribuyen al repertorio de glucanos intestinales [33]. Los HMO contribuyen también a la función de barrera epitelial al apoyar el crecimiento de *B. infantis* en el intestino del lactante [10, 18]. *B. infantis* produce péptidos que se ha demostrado, en un modelo murino de colitis, que normalizan la permeabilidad intestinal a través del aumento de la expresión de proteínas de la unión intercelular hermética [34]. Es probable que los HMO apoyen otras especies bacterianas que son importantes para el mantenimiento de la integridad intestinal. Estos cambios en la función de barrera intestinal alterarían a su vez el sistema inmunitario tanto local como sistémico [35]. Los HMO afectan las poblaciones de células inmunitarias y la secreción de citocina [22, 36] (indicado con 9 en la Figura 2). Algunos HMO se absorben también hacia el torrente sanguíneo [37-39] (indicado con 10 en la Figura 2), en donde ejercen efectos sistémicos al unir a los monocitos, linfocitos y neutrófilos con las células endoteliales [40] (indicado con 11 en la Figura 2) y la formación de complejos plaquetas-neutrófilo [41] (indicado con 12 en la Figura 2). Se remite al lector a una revisión reciente de Kulinich y Liu [15] para un análisis adicional de este tema.

### Fijación de hidratos de carbono como un posible mecanismo de los HMO en el sistema inmunitario

Los hidratos de carbono y las proteínas fijadoras de hidratos de carbono desempeñan un papel importante en las respuestas inmunitarias. Las células tienen firmas únicas de glicanos, hechas a partir de combinaciones de unidades de glicanos específicos que participan cuando una célula se pone en contacto con otra célula u otros componentes de su ambiente [42,43]. Sin embargo, muchas de las unidades de glicanos que se encuentran en las células de los mamíferos se encuentran también en los microbios y en los alimentos, entre los que se incluye la leche materna. Estas similitudes proporcionan oportunidades para interacciones huésped-microbio-HMO.

Las lectinas son proteínas fijadoras de hidratos de carbono sobre las superficies de las células de mamíferos que convierten el reconocimiento de unidades específicas y la presentación espacial de esas unidades, en acción. Las lectinas se agrupan según sus dominios de reconocimiento de hidrato de carbono (CRD, *carbohydrate recognition domains*) [42, 43]. Existe por lo menos una docena de CRD

identificadas en los mamíferos, aunque son tres las clases de lectinas relacionadas con la influencia de los HMO en las respuestas inmunitarias, éstas son: lectinas de tipo-C, lectinas semejantes a Ig fijadoras de ácido siálico o siglecs (*Sialic acid-binding Ig-like lectins*), y galectinas.

Las lectinas tipo C requieren de calcio para funcionar e incluyen selectinas, lectina fijadora de manosa y, la no integrina que engancha una molécula de adhesión 3 intercelular, específica de la célula dendrítica (DC-SIGN, *dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin*). Los receptores de lectina tipo C sobre la superficie de las células dendríticas (DC, *dendritic cells*) determinan si la célula inducirá tolerancia en vez de activación del linfocito [44]. La DC-SIGN, reviste interés particular con respecto a los mecanismos por los cuales los HMO influyen en la inmunidad debido a que tiene un CRD específico para unidades de fucosa. Además, las células del tubo digestivo de los lactantes expresan DC-SIGN [45]. Es muy probable que estas células intestinales sean células presentadoras de antígeno, en específico DC [43]. Aunque las interacciones entre los ligandos fucosilados y DC-SIGN contribuyen a la tolerancia inmunitaria, la respuesta celular depende al final de otras reacciones ligando-receptor que ocurren en forma simultánea [43].

Las siglecs son lectinas fijadoras de ácido siálico que se encuentran con más frecuencia sobre subgrupos de células inmunitarias [46]. Existen por lo menos 16 siglecs expresadas por diferentes poblaciones de leucocitos, entre las que se incluyen sialoadhesina (siglec-1), CD22 (siglec-2), glucoproteína relacionada con la mielina (MAG, siglec-4), siglec-15 y siglecs relacionadas con CD33. La especificidad de las siglecs se deriva de las diferencias en los sitios de unión secundarios [43]. Las siglecs son receptores de superficie de células endocíticas que transportan cargamento entre la superficie celular y las vesículas intracelulares; estos receptores se expresan principalmente en las células implicadas en el procesamiento y presentación de antígenos [43]. Asimismo, las moléculas que contienen ácido siálico pueden entrar a los macrófagos al unirse a siglecs en la superficie celular [46]. En las células de los mamíferos, algunos glicanos que contienen ácido siálico funcionan como patrones moleculares autoasociados y evitan las respuestas inmunitarias a estímulos no patógenos. La ligadura de siglecs particulares estimula la producción de la citocina inmunoreguladora, interleucina-10 (IL-10) [47].

Las galectinas son importantes para el recambio celular y la regulación inmunitaria. El CRD de las galectinas es específico para los  $\beta$ -galactósidos. Cuando las células están desialiladas, aumenta la densidad de las mitades de galactosa expuestas sobre la superficie celular. Por ejemplo, las células T vírgenes expresan CD45 con un ácido siálico unido en  $\alpha$ -2,6. La cantidad de ácido siálico unido en  $\alpha$ -2,6 se reduce tras la activación de la célula T. La disminución del ácido siálico unido a  $\alpha$ -2,6 hace que las células T activadas sean susceptibles de apoptosis me-

**Cuadro 2.** Criterios de valoración relacionados con inmunidad de los estudios de alimentación con HMO

Especies	Diseño del estudio	Hallazgos importantes	Ref.
Lactantes humanos	Lactantes sanos producto de embarazo único, incluidos en el quinto día de vida y alimentados con fórmulas hasta los cuatro meses de edad – Alimentado al seno materno – Fórmula + 2.4 g/L GOS – Fórmula + 2.2 g/L GOS + 0.2 g/L 2'FL – Fórmula + 1.4 g/L GOS + 1.0 g/L 2'FL PBMC aisladas a las 6 semanas de edad	Los lactantes alimentados al seno materno y los alimentados con cualquiera de las fórmulas con 2'FL fueron similares y tuvieron un menor número de citocinas inflamatorias plasmáticas que los lactantes alimentados con la fórmula de control. En cultivos <i>ex vivo</i> de PBMC estimuladas con RSV, las células de los lactantes alimentados al seno materno no fueron diferentes de las de los grupos alimentados con fórmula con 2'FL, aunque secretaron menos TNF- $\alpha$ e IFN- $\gamma$ y una tendencia a tener menos IL-1Ra, IL-6 e IL-1 $\beta$ que las células provenientes de lactantes de rata alimentados con la fórmula control	53
Lactantes humanos	Lactantes sanos producto de embarazo único, incluidos en el decimocuarto día de vida y alimentados con fórmula experimental a los seis meses de edad, y fórmula de seguimiento estándar a los 12 meses – Fórmula – Fórmula + 1.0 g/L 2'FL + 0.5 g/L LNnT	Los lactantes alimentados con fórmula complementada con HMO tuvieron un número significativamente menor de informes de los padres de: – Bronquitis hasta los 4, 6, y 12 meses – Menos infección de vías respiratorias hasta los 12 meses – Uso de antipiréticos hasta los 4 meses – Uso de antibióticos hasta los 6 y 12 meses	54
Lechones privados de calostro	Estudio de alimentación de 15 días – Fórmula – Fórmula + 4 g/L HMO (40% 2'FL; 35% LNnT; 10% 6'SL; 5% 3'SL; 10% SA libre) Infectados con cepa OSU de RV en el día 10 y analizados el día 15	HMO provocó una duración más corta de la diarrea y una mayor expresión del IFN- $\gamma$ ileal y el IL-10 mRNA que la fórmula, pero concentraciones similares de IgG e IgM específicas para RV como con la fórmula	22
Ratones C57BL/6 hembra adulta	Modelo de infección por <i>E. coli</i> – 0.25% DSS por vía oral durante los días 0–3 – 2'FL (100 mg o vehículo a través de sonda oral los días 0–4) – 20 mg estreptomina mediante sonda oral en el día 4 Infectado con AIEC en el día 5 y analizado en el día 9	2'FL evitó la pérdida de peso y redujo la colonización de AIEC, inflamación del colon, expresión de CD14 de las células de la cripta y de IL-6, IL-17, y producción de TNF- $\alpha$ en respuesta a la infección con AIEC	29
Ratones Balb/c macho adulto	Modelo de tratamiento para alergia a alimento – Sensibilizado IP a OVA – 2 semanas después (día 27), alimentación por sonda oral, diario (1 mg en 200 mL PBS) 2'FL 6'SL Lactosa – Provocación oral el día 28 con OVA (50 mg) cada 3 días hasta el día 43	2'FL y 6'SL atenuaron la diarrea y la hipotermia inducida por la provocación con OVA, reducción del número de células cebadas intestinales y anafilaxia cutánea pasiva, y aumento de las células T reguladoras de las placas de Peyer y CD11c+CD103+ DC 6'SL aumentó la IgG2a específica de OVA y las células T reguladoras MLN Los esplenocitos de ratones tratados con 6'SL produjeron más IFN- $\gamma$ e IL-10 pero menos TNF Los esplenocitos provenientes de ratones tratados con 2'FL produjeron menos IFN- $\gamma$	51

2'FL, 2'-fucosilactosa; 3'SL, 3'-sialilactosa; 6'SL, 6'-sialilactosa; AIEC, *E. coli* adherente invasiva (*adherent-invasive E. coli*), DC, (células dendríticas, *dendritic cells*, por sus siglas en inglés); DSS, sulfato de sodio dextrán (*dextran sodium sulfate*, por sus siglas en inglés); GOS, galacto-oligosacáridos; HMO, oligosacáridos de leche materna (*Human milk oligosaccharides* por sus siglas en inglés); IFN, interferón; IP, Infección intraperitoneal; Ig, inmunoglobulina; IL, interleucina; LNnT, lacto-N-neotetraosa; MLN, ganglios linfáticos mesentéricos (*mesenteric lymph nodes*, por sus siglas en inglés); OSU, Ohio State University; OVA, ovalbúmina; PBMC, células mononucleares en sangre periférica (*peripheral blood mononuclear cells*, por sus siglas en inglés); PBS, solución salina amortiguada con fosfato (*phosphate-buffered saline*, por sus siglas en inglés); RSV, virus sincicial respiratorio (*respiratory syncytial virus*, por sus siglas en inglés); RV, rotavirus; SA, ácido siálico (*sialic acid*, por sus siglas en inglés); TNE, factor de necrosis tumoral (*tumor necrosis factor*, por sus siglas en inglés).

diada por galectina-1 [48]. De ahí que es posible que la fijación de los HMO sialilados a las células evite la apoptosis.

### Los HMO como moduladores de la inmunidad de la mucosa

Se han utilizado líneas celulares intestinales para determinar los efectos de los HMO sobre la expresión génica

relacionada con la inmunidad y la producción de proteínas. Estas células se han incubado junto con oligosacáridos [28], bacterias [48] o lipopolisacáridos (LPS) para hacer un modelo de infección bacteriana [29]. La incubación concurrente de *Bifidobacterium* con células de la línea de células intestinales Caco-2 y HMO provocó una disminución de los genes de células intestinales relacionados con actividad de quimiocina en comparación con la incubación concurrente



con glucosa o lactosa [29]. Por el contrario, en ausencia de un coestimulante bacteriano, los HMO aumentaron la expresión de varias quimiocinas de la línea celular HT-29 [28]. Trabajos adicionales en las líneas celulares intestinales T84 y HCT8 mostraron que las mezclas complejas de HMO así como 2'FL redujeron los signos distintivos de inflamación intestinal [29].

Se ha demostrado que los HMO afectan el curso de una infección viral gastrointestinal. En un modelo de infección aguda por rotavirus (RV) en donde se aisló *in situ*, un ileón de lechón de 21 días de nacido, las asas intestinales tratadas con HMO y RV tuvieron una reducción en la expresión del mRNA de la proteína no estructural-4 (NSP-4, *non-structural protein-4*, por sus siglas en inglés), lo que indicó que HMO redujo la replicación del RV [49]. Sin embargo, la expresión de la citocina y quimiocina intestinales no se vio afectada. Tanto los HMO neutrales como los ácidos disminuyeron la expresión de mRNA intestinal en el modelo *in situ*, mientras que sólo el HMO ácido inhibió de manera efectiva la infectividad del RV en un modelo *in vitro* [49].

### Los HMO como moduladores de la inmunidad sistémica y la protección de la infección

En el plasma de lactantes alimentados al seno materno se detectan HMO en concentraciones de 1 a 133 mg/L [37, 39], lo que indica el potencial del HMO dietético para afectar en forma directa las células inmunitarias que circulan en la sangre. Como se analizó en párrafos anteriores, muchos de los receptores inmunitarios reconocen las estructuras de oligosacáridos de sus ligandos glucoproteicos [14, 15]. Debido a que un subgrupo de HMO es estructuralmente semejante a los ligandos de selectina [14] es probable que el HMO se fije directamente a las células inmunitarias y desencadene la señalización que provoca los cambios en las poblaciones de células inmunitarias y sus funciones. Por ejemplo, las selectinas P y E reconocen el sialil-Lewis x (sLeX), una mitad de glicano de varios HMO [11]. Además, la fucosilación y sialilación, dos modificaciones enzimáticas frecuentes en los HMO, permiten la fijación de selectinas [50]. La alteración, inducida por HMO, de las interacciones proteína-hidrato de carbono reducen el ondulado [40] y activación [41] de los neutrófilos. Los HMO afectan en forma directa la proliferación de las células inmunitarias y la producción de citocina en experimentos *ex vivo* con células mononucleares en sangre periférica (PBMC, *peripheral blood mononuclear cells*, por sus siglas en inglés) provenientes de cerdos recién nacidos [36]. La estimulación del HMO aislado estimuló la producción de la citocina reguladora IL-10 [36]. Otros observaron que el HMO ácido induce la producción de IL-10; además encontraron que el HMO ácido induce el IFV- $\gamma$  proveniente de células mononucleares estimuladas, en sangre del cordón humano *ex vivo* [45]. Los HMO aislados aumentaron la proliferación de PBMC estimuladas con mitógeno de célula T, fitohemaglutinina (PHA,

*phytohemagglutinin*, por sus siglas en inglés) y HMO sialilado aumentaron la proliferación de PBMC estimuladas con el mitógeno LPS de células B [36]. En contraste 2'FL inhibieron la proliferación del cultivo de PBMC durante tres días. Así, la respuesta del HMO tal vez dependa del estado del lactante. En el estado no estimulado, el HMO disminuye la proliferación, mientras que el HMO aumenta la proliferación en respuesta a un estímulo mitógeno.

Hasta la fecha, muy pocos estudios han alimentado y analizado los criterios de valoración inmunitarios [22, 29, 30, 51-54] (Cuadro 2). Los lechones [55] se han alimentado con 2'FL, pero sólo se informó sobre los criterios de valoración del crecimiento y toxicología. Un artículo de reciente publicación describió los resultados inmunitarios en lactantes humanos alimentados con fórmula que contenía 2.4 g/L GOS, 2.2 g/L GOS + 0.2 g/L 2'FL, o 1.4 g/L GOS + 1.0 g/L 2'FL, en comparación con controles de referencia alimentados al seno materno [53]. Se alimentó a los lactantes con la fórmula desde los cinco días hasta los cuatro meses de edad, y se obtuvieron muestras de sangre a las seis semanas de edad para análisis de citocinas, fenotipado de células inmunitarias y estimulación *ex vivo* de PBMC aisladas.

Los lactantes alimentados al seno materno y los alimentados con cualquiera de las fórmulas con 2'FL eran similares y tenían menos citocinas inflamatorias plasmáticas que los lactantes alimentados con la fórmula control. Además, la secreción de citocina de las PBMC provenientes de los lactantes alimentados al seno materno y los lactantes alimentados con cualquiera de las fórmulas que contenían 2'FL que se estimularon *ex vivo* con virus sincicial respiratorio fue similar y secretaron menos factor de necrosis tumoral  $\alpha$  e interferón  $\gamma$  y una tendencia a tener menor IL-1RA, IL-6 e IL-1 $\beta$  que las células provenientes de lactantes alimentados con la fórmula control [53].

En otro estudio reciente en lactantes humanos se evaluó el efecto de la fórmula complementada tanto con 2'FL (1.0 g/L) como LNnT (0.5 g/L) se compararon con una fórmula sin complemento. Los lactantes recibieron la fórmula desde los 14 días hasta los seis meses de edad. Después de los cuales cambiaron a fórmula de seguimiento estándar y siguieron hasta los 12 meses de edad. Los lactantes alimentados con fórmula complementada HMO tuvieron significativamente menos informes de los padres sobre: bronquitis hasta los cuatro meses (2.3 vs. 12.6%), seis meses (6.8 vs. 21.8%), y 12 meses (10.2 vs. 27.6%); infección de vías respiratorias inferiores (conjunto AE) hasta los 12 meses (19.3 vs. 34.5%); uso de antipiréticos hasta los cuatro meses (15.9 vs. 29.9%); y uso de antibióticos hasta los seis meses (34.1 vs. 49.4%) y 12 meses (42.0 vs. 60.9%) en comparación con los alimentados con la fórmula estándar [54].

Varios estudios en modelos animales apoyan la incidencia disminuida de infección en los lactantes humanos alimentados con fórmula con HMO. En los ratones infectados con *Escherichia coli*, la administración oral por sonda con 100 mg diarios, 2'FL evitó la pérdida de peso corporal y redujo la co-

lonización con *E. coli* adherente invasiva, la inflamación del colon, la expresión de células CD4 en las criptas, así como la producción de IL-6, IL-7 y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  en respuesta a la infección por *E. coli* adherente invasiva, en comparación con los ratones tratados con vehículo [29]. Los ratones alimentados con 2'FL y sujetos a resección ileocecal aumentaron más de peso y tuvieron una mayor profundidad de las criptas y altura de las vellosidades en el sitio de corte en comparación con los ratones sin complementación [30]. Los estudios en los que los cerdos y lactantes humanos se alimentaron con HMO se han enfocado en 2'FL, el cual es fácil de conseguir en grandes cantidades con un costo razonable y se ha mostrado que los oligosacáridos fucosilados alimentan clases específicas de bacterias durante los eventos inflamatorios intestinales [56]. Dado lo que se sabe acerca de los efectos de otros HMO, estos compuestos también deben utilizarse en los estudios de alimentación cuando se disponga en suficientes cantidades.

Sólo un estudio *in vivo* utilizó una mezcla compleja de HMO y evaluó los criterios de valoración inmunitarios. En ese informe, los cerdos recién nacidos alimentados con una dieta que contenía 4 g/L HMO, que consistía en 40% 2'FL, 10% 6'-sialyllactosa (6'SL), 35% lacto-N-neotetraosa (LNnT), 5%, 3'-sialyllactosa (3'SL) y 10% de ácido siálico libre, tuvieron una menor duración de la diarrea, en respuesta a la infección por RV con  $48.8 \pm 9.8$  h *versus*  $80.6 \pm 4.5$  h en los cerdos alimentados con fórmula no complementada [22]. El tejido ileal de los cerdos alimentados con HMO contenía más IFN- $\gamma$  (producido por las células Th1) e IL-10 (una citocina antiinflamatoria) mRNA en comparación con el que provenía de los cerdos alimentados con fórmula [22].

En un modelo murino de alergia a alimentos, se administró 2'FL y 6'SL a través de sonda oral se redujeron los síntomas en ratones sensibilizados a ovoalbúmina, una proteína del huevo [51]. Específicamente, los esplenocitos estimulados con ovoalbúmina, provenientes de ratones tratados con 6'SL produjeron más IL-10 y menos IFN- $\gamma$  que los que provenían de ratones no tratados. Además, los ratones tratados con 2'FL o 6'SL tuvieron un mayor número de células inmunitarias reguladoras en sus tejidos inmunitarios intestinales que los ratones no tratados. Es interesante que, ni 2'FL ni 6'SL afectaron las células T reguladoras cuando se administraron a ratones no sensibilizados [51]. Esto ejemplifica la necesidad de identificar un modelo con provocación adecuada para evaluar los efectos de los compuestos dietéticos en el sistema inmunitario. En los ratones, los oligosacáridos de la leche LNFP III y LNnT tienen preferencia por Th2 y suprimen las respuestas Th1 [57]. En fechas recientes, se ha informado que los lactantes alimentados al seno materno con concentraciones bajas de LNFP III ( $< 60$  mCM) tuvieron una probabilidad 6.7 veces mayor (IC 95% 2.0 a 22) de presentar alergia a la leche de vaca cuando se compararon con

los lactantes que recibieron leche con concentraciones altas de LNFP III [58].

Otra estrategia utilizando ratones *knockout* mostraron que los compuestos que contenían SL afectan en forma directa la inmunidad de la mucosa gastrointestinal [52, 59]. En un estudio, la presencia de 3'FL en la leche, aumentó el número de células inmunitarias infiltrando el intestino en ratones sin IL-10 [52]. Además, la complementación con 3'FL aumentó la gravedad de la colitis en los ratones recién nacidos sin IL-10 ni St3gal4 (la enzima que sintetiza 3'SL), y que si cruzaban ratones naturales con madres deficientes se reducía la gravedad de la colitis. Un inconveniente de este trabajo es que se realizó en ausencia de producción de IL-10, mientras que otros estudios *in vivo* han demostrado que algunos HMO aumentan la IL-10 intestinal [22, 51]. 3'SL es un producto de varias bacterias patógenas [60] y la conformación (enlace  $\alpha$ 2,3-entre el ácido siálico y la galactosa) en las bacterias patógenas y en la leche materna es la misma. DC reconoce el 3'SL y genera una respuesta inmunitaria a través de la vía de señalización TLR4 [61]. Estos resultados indican que la presencia de 3'SL aumenta la respuesta inflamatoria a través de efectos directos sobre DC. Cuando TLR4 estaba ausente, 3'SL fue menos efectivo al inducir la activación de DC. Sin embargo, esos DC demostraron también un aumento mínimo en la expresión de CD40 lo que indica que, en DC, existe por lo menos otro mecanismo de sensibilidad 3'SL, aunque mucho menos eficiente que la vía TLR4. TLR4 es el receptor para LPS de *E. coli*. Otro vínculo entre 3'SL y TLR4 se explica en un artículo más nuevo, en donde se demuestra que 3'SL estimula la proliferación intestinal de la población de *E. coli* y que esta proliferación de *E. coli* es responsable de la exacerbación de colitis por sulfato de sodio dextrán a través de la liberación de citocinas proinflamatorias desde DC intestinal [62]. Estos ejemplos demuestran la complejidad de las relaciones entre los oligosacáridos, las bacterias intestinales y el sistema inmunitario.

## Conclusión

La gran diversidad de HMO tiene el potencial de modular la inmunidad tanto innata como la neonatal adaptativa. Los hallazgos de los experimentos *in vitro* y los modelos animales muestran que los HMO interactúan en forma directa con las células epiteliales del tubo digestivo, así como con las células inmunitarias de la mucosa y sistémicas para modular la función inmunitaria. Los HMO también dan forma de manera benéfica al microbioma del lactante alimentado al seno materno. El aumento de disponibilidad de los HMO en fuentes comerciales, así como la evidencia acumulada que demuestra que la fórmula complementada con HMO es segura y confiere beneficios para los lactantes humanos ha llevado a la adición reciente de 2'FL solo o en combinación con LNnT a la fórmula infantil. Además, debido a sus

efectos benéficos en la función inmunitaria y la defensa del huésped, los HMO tal vez sean benéficos para otros segmentos de la población que tienen compromiso inmunitario o están en alto riesgo de infección. Existen pocos estudios en los cuales los animales o humanos se han alimentado con HMO. Asimismo, pocos estudios han evaluado los efectos, que tiene sobre la respuesta inmunitaria, alimentar con mezclas complejas de HMO. De ahí que se necesite investigación futura para delinear los mecanismos y conocer por completo

el potencial de los HMOI para el beneficio de la función inmunitaria del lactante.

## Declaración

Sharon Donovan ha recibido financiamiento con becas provenientes de Nestlé Nutrition R&D. Sarah Comstock no tiene nada que declarar.

## Referencias

- Levy O, Wynn JL: A prime time for trained immunity: innate immune memory in newborns and infants. *Neonatology* 2014;105:136–141.
- Walker WA, Iyengar RS: Breast milk, microbiota, and intestinal immune homeostasis. *Pediatr Res* 2015;77:220–228.
- Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K: Human breast milk: a review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev* 2015; 91:629–635.
- Turfkruyer M, Verhassel V: Breast milk and its impact on maturation of the neonatal immune system. *Curr Opin Infect Dis* 2015;28: 199–206.
- Donovan SM: Role of human milk components in gastrointestinal development: current knowledge and future needs. *J Pediatr* 2006; 149:S49–S61.
- American Academy of Pediatrics, Section on Breastfeeding: Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 2012;129:e827–e841.
- Horta BL, Victora CG: Long-term Effects of Breastfeeding. Geneva, World Health Organization, 2013. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79198/1/9789241505307\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79198/1/9789241505307_eng.pdf) (accessed September 15, 2016).
- Li M, Wang M, Donovan SM: Early development of the gut microbiome and immunemediated childhood disorders. *Semin Reprod Med* 2014;32:74–86.
- Wang M, Monaco MH, Donovan SM: Impact of early gut microbiota on immune and metabolic development and function. *Semin Fetal Neonat Med* 2016, Epub ahead of print.
- Smilowitz JT, Lebrilla CB, Mills DA, German JB, Freeman SL: Breast milk oligosaccharides: structure-function relationships in the neonate. *Annu Rev Nutr* 2014;34:143–169.
- Kunz C, Meyer C, Collado MC, Geiger L, Garcia-Mantrana I, Bertua-Rios B, Martinez-Costa C, Borsch C, Rudloff S: Influence of gestational age, secretor and Lewis blood group status on the oligosaccharide content of human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2016, Epub ahead of print.
- Thurl S, Munzert M, Henker J, Boehm G, Muller-Werner B, Jelinek J, Stahl B: Variation of human milk oligosaccharides in relation to milk groups and lactational periods. *Br J Nutr* 2010;104:1261–1271.
- Martin-Sosa S, Martin MJ, Garcia-Pardo LA, Hueso P: Sialyloligosaccharides in human and bovine milk and in infant formulas: variations with the progression of lactation. *J Dairy Sci* 2003;86:52–59.
- Newburg DS, He Y: Neonatal gut microbiota and human milk glycans cooperate to attenuate infection and inflammation. *Clin Obstet Gynecol* 2015;58:814–826.
- Kulinich A, Liu L: Human milk oligosaccharides: the role in the fine-tuning of innate immune responses. *Carbohydr Res* 2016;432:62–70.
- Lewis ZT, Totten SM, Smilowitz JT, Popovic M, Parker E, Lemay DG, Van Tassell ML, Miller MJ, Jin YS, German JB, Lebrilla CB, Mills DA: Maternal bifidobacterial communities of breastfed infants. *Microbiome* 2015;3:13.
- Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Chaturvedi P, Meinzen-Derr J, Guerrero MDL, et al: Innate protection conferred by fucosylated oligosaccharides of human milk against diarrhea in breastfed infants. *Glycobiology* 2004;14:253–263.
- Underwood MA, German JB, Lebrilla CB, Mills DA: *Bifidobacterium longum* subspecies infantis: champion colonizer of the infant gut. *Pediatr Res* 2015;77:229–235.
- Garrido D, Barile D, Mills DA: A molecular basis for bifidobacterial enrichment in the infant gastrointestinal tract. *Adv Nutr* 2012;3:415S–421S.
- Steenhout P, Sperisen P, Martin F-P, Sprenger N, Wernimont S, Pecquet S, Berger B: Term infant formula supplemented with human milk oligosaccharides (2'-fucosyllactose and lacto-N-neotetraose) shifts stool microbiota and metabolic signatures closer to that of breastfed infants. *FASEB J* 2016;30 (suppl 1):275.7
- Li M, Bauer LL, Chen X, Wang M, Kuhlenschmidt TB, Kuhlenschmidt MS, Fahey GC Jr, Donovan SM: Microbial composition and in vitro fermentation patterns of human milk oligosaccharides and prebiotics differ between formula-fed and sow-reared piglets. *J Nutr* 2012;142:681–689.
- Li M, Monaco MH, Wang M, Comstock SS, Kuhlenschmidt TB, Fahey GC Jr, Miller MJ, Kuhlenschmidt MS, Donovan SM: Human milk oligosaccharides shorten rotavirus-induced diarrhea and modulate piglet mucosal immunity and colonic microbiota. *ISME J* 2014;8:1609–1620.
- Goto Y, Kiyono H: Epithelial barrier: an interface for the cross-communication between gut flora and immune system. *Immunol Rev* 2012;245:147–163.
- Sassone-Corsi M, Raffatellu M: No vacancy: how beneficial microbes cooperate with immunity to provide colonization resistance to pathogens. *J Immunol* 2015;194:4081–4087.
- Hester SN, Donovan SM: Individual and combined effects of nucleotides and human milk oligosaccharides on proliferation, apoptosis and necrosis in a human fetal intestinal cell line. *Food Nutr Sci* 2012;3:1567–1576.
- Holscher HD, Davis SR, Tappenden KA: Human milk oligosaccharides influence maturation of human intestinal Caco-2Bbe and HT-29 cell lines. *J Nutr* 2014;144:586–591.
- Bhatia S, Prabhu PN, Benefiel AC, Miller MJ, Chow J, Davis SR, Gaskins HR: Galacto-oligosaccharides may directly enhance intestinal barrier function through the modulation of goblet cells. *Mol Nutr Food Sci* 2015;59:566–573.
- Lane JA, O'Callaghan J, Carrington SD, Hickey RM: Transcriptional response of HT-29 intestinal epithelial cells to human and bovine milk oligosaccharides. *Br J Nutr* 2013;110:2127–2137.
- He Y, Liu S, Kling DE, Leone S, Lawlor NT, Huang Y, Feinberg SB, Hill DR, Newburg DS: The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose modulates CD14 expression in human enterocytes, thereby attenuating LPS-induced inflammation. *Gut* 2016;65:33–46.
- Mezoff EA, Hawkins JA, Ollberding NJ, Karns R, Morrow AL, Helmrath MA: The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose augments the adaptive response to extensive intestinal resection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2016;310:G427–G438.
- Wickramasinghe S, Pacheco AR, Lemay DG, Mills DA: Bifidobacteria grown on human milk oligosaccharides downregulate the expression of inflammation-related genes in Caco-2 cells. *BMC Microbiol* 2015;15:172.

32. Marcobal A, Sonnenburg JL: Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(suppl 4):12–15.
33. Kavanaugh D, O'Callaghan J, Kilcoyne M, Kane M, Joshi L, Hickey RM: The intestinal glycome and its modulation by diet and nutrition. *Nutr Rev* 2015;73:359–375.
34. Ewaschuk JB, Diaz H, Meddings L, Diederichs B, Dmytrash A, Backer J, Looijer-van Langen M, Madsen KL: Secreted bioactive factors from *Bifidobacterium infantis* enhance epithelial cell barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295:1025–1034.
35. Macpherson AJ, Geuking MB, McCoy KD: Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. *Immunology* 2005;115:153–162.
36. Comstock SS, Wang M, Hester SN, Li M, Donovan SM: Select human milk oligosaccharides directly modulate peripheral blood mononuclear cells isolated from 10-d-old pigs. *Br J Nutr* 2014;111:819–828.
37. Goehring KC, Kennedy AD, Prieto PA, Buck RH: Direct evidence for the presence of human milk oligosaccharides in the circulation of breastfed infants. *PLoS One* 2014;9:e101692.
38. Marriage BJ, Buck RH, Goehring KC, Oliver JS, Williams JA: Infants fed a lower calorie formula with 2'-fucosyllactose (2'FL) show growth and 2'FL uptake like breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;61:649–658.
39. Ruhaak LR, Stroble C, Underwood MA, Lebrilla CB: Detection of milk oligosaccharides in plasma of infants. *Anal Bioanal Chem* 2014;406:5775–5784.
40. Bode L, Kunz C, Muhly-Reinholz M, Mayer K, Seeger W, Rudloff S: Inhibition of monocyte, lymphocyte, and neutrophil adhesion to endothelial cells by human milk oligosaccharides. *Thromb Haemost* 2004;92:1402–1410.
41. Bode L, Rudloff S, Kunz C, Strobel S, Klein N: Human milk oligosaccharides reduce platelet-neutrophil complex formation leading to a decrease in neutrophil beta 2 integrin expression. *J Leukoc Biol* 2004;76:820–826.
42. Rabinovich GA, Croci DO: Regulatory circuits mediated by lectin-glycan interactions in autoimmunity and cancer. *Immunity* 2012;36:322–335.
43. Schnaar RL: Glycans and glycan-binding proteins in immune regulation: a concise introduction to glycobiology for the allergist. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:609–615.
44. Geijtenbeek TB, van Vliet SJ, Engering A, 't Hart BA, van Kooyk Y: Self- and nonselfrecognition by C-type lectins on dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2004;22:33–54.
45. Koning N, Kessen SF, Van Der Voorn JP, Appelmelk BJ, Jeurink PV, Knippels LM, Garssen J, Van Kooyk Y: Human milk blocks DCSIGN-pathogen interaction via MUC1. *Front Immunol* 2015;6:112.
46. Macauley MS, Crocker PR, Paulson JC: Siglec-mediated regulation of immune cell function in disease. *Nat Rev Immunol* 2014;14:653–666.
47. Stephenson HN, Mills DC, Jones H, Milioris E, Copland A, Dorrell N, Wren BW, Crocker PR, Escors D, Bajaj-Elliott M: Pseudaminic acid on *Campylobacter jejuni* flagella modulates dendritic cell IL-10 expression via Siglec-10 receptor: a novel flagellin-host interaction. *J Infect Dis* 2014;210:1487–1498.
48. Earl LA, Bi S, Baum LG: N- and O-glycans modulate galectin-1 binding, CD45 signaling, and T cell death. *J Biol Chem* 2010;285:2232–2244.
49. Hester SN, Chen X, Li M, Monaco MH, Comstock SS, Kuhlenschmidt TB, Kuhlenschmidt MS, Donovan SM: Human milk oligosaccharides inhibit rotavirus infectivity in vitro and in acutely infected piglets. *Br J Nutr* 2013;110:1233–1242.
50. Luhn K, Wild MK: Human deficiencies of fucosylation and sialylation affecting selectin ligands. *Semin Immunopathol* 2012;34:383–399.
51. Castillo-Courtade L, Han S, Lee S, Mian FM, Buck R, Forsythe P: Attenuation of food allergy symptoms following treatment with human milk oligosaccharides in a mouse model. *Allergy* 2015;70:1091–1102.
52. Kurakevich E, Hennes T, Hausmann M, Rogler G, Borsig L: Milk oligosaccharide sialyl( $\alpha$ 2,3) lactose activates intestinal CD11c+ cells through TLR4. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:17444–17449.
53. Goehring KC, Marriage BJ, Oliver JS, Wilder JA, Barrett EG, Buck RH: Similar to those who are breastfed, infants fed a formula containing 2'-fucosyllactose have lower inflammatory cytokines in a randomized controlled trial. *J Nutr* 2016, DOI: 10.3945/jn.116.236919.
54. Puccio G, Alliet P, Cajozzo C, Janssens E, Corsello G, Wernimont S, Egli D, Gosoni L, Sprenger N, Steenhout P: Effects of infant formula with human milk oligosaccharides on growth and morbidity: a randomized multicenter trial. *JPGN*, in press.
55. Hanlon PR, Thorsrud BA: A 3-week preclinical study of 2'-fucosyllactose in farm piglets. *Food Chem Toxicol* 2014;74:343–348.
56. Kashyap PC, Marcobal A, Ursell LK, Smits SA, Sonnenburg ED, Costello EK, Higginbottom SK, Domino SE, Holmes SP, Relman DA, Knight R, Gordon JI, Sonnenburg JI: Genetically dictated change in host mucus carbohydrate landscape exerts a diet-dependent effect on the gut microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:17059–17064.
57. Okano M, Satoskar AR, Nishizaki K, Harn DA Jr: Lacto-N-fucopentaose III found on *Schistosoma mansoni* egg antigens functions as adjuvant for proteins by inducing Th2-type response. *J Immunol* 2001;167:442–450.
58. Seppo AE, Auroman CA, Bode L, Jarvinen KM: Human milk oligosaccharides and development of cow's milk allergy in infants. *J Allergy Clin Immunol* 2016, Epub ahead of print.
59. Huang YL, Chassard C, Hausmann M, von Itzstein M, Hennes T: Sialic acid catabolism drives intestinal inflammation and microbial dysbiosis in mice. *Nat Commun* 2015;6:8141.
60. Severi E, Hood DW, Thomas GH: Sialic acid utilization by bacterial pathogens. *Microbiology* 2007;153:2817–2822.
61. Audry M, Jeanneau C, Imbert A, Harduin-Lepers A, Delannoy P, Breton C: Current trends in the structure-activity relationships of sialyltransferases. *Glycobiology* 2011;21:716–726.
62. Kuijff ML, Samsom JN, van Rijs W, Bax M, Huizinga R, Heikema AP, van Doorn PA, van Belkum A, van Kooyk Y, Burgers PC, Luidert TM, Endtz HP, Nieuwenhuis EE, Jacobs BC: TLR4-mediated sensing of *Campylobacter jejuni* by dendritic cells is determined by sialylation. *J Immunol* 2010;185:748–755.

# Annales Nestlé

## Leche materna: lecciones a partir de la investigación reciente

### 5 Editorial

Haschke, F. (Salzburg)

### Leche materna: lecciones a partir de la investigación reciente

7 Enfoque en: Bancos de leche materna

### 8 Bancos de leche materna

Haiden, N. (Vienna); Ziegler, E.E. (Iowa City, IA)

16 Enfoque en: proteínas nutritivas y bioactivas en la leche materna

### 17 Proteínas nutritivas y bioactivas en la leche materna

Haschke, F. (Salzburg); Haiden, N. (Vienna); Thakkar, S.K. (Lausanne)

27 Enfoque en: Lípidos de la leche materna

### 28 Lípidos de la leche materna

Koletzko, B. (Munich)

41 Enfoque en: los oligosacáridos de la leche materna influyen en la mucosa neonatal y la inmunidad sistémica

### 42 Los oligosacáridos de la leche materna influyen en la mucosa neonatal y la inmunidad sistémica

Donovan, S.M. (Urbana, IL); Comstock, S.S. (East Lansing, MI)

KARGER

Nestlé  
Nutrition Institute