



Oligosacáridos de la leche humana:

¿A dónde vamos desde aquí?

Resúmenes del Simposio Satélite de la ESPGHAN 2018

Oligosacáridos de la leche humana: ¿A dónde vamos desde aquí?

Dr. Norbert Sprenger | Suiza

Importancia fisiológica: ¿Por qué están en la leche de la madre?

Dr. Philippe Alliet | Bélgica

Estudios clínicos ¿Qué se sabe, y qué necesita estudios adicionales?

Nota de bienvenida

Prof. Yvan Vandenplas
Hospital Universitario de Bruselas
Universidad Libre de Bruselas | Bélgica



La leche materna es el alimento natural y mejor para los bebés, que proporciona toda la energía y los nutrientes que necesita el lactante en los primeros meses de vida. La leche de la madre continúa proporcionando la mitad o más de las necesidades nutricionales de un niño durante el segundo año de vida. En comparación con los bebés que reciben lactancia materna exclusiva, los lactantes alimentados con fórmula sufren más enfermedades infecciosas, como gastroenteritis y otitis media aguda, y más enfermedades mediadas inmunológicamente, como la enfermedad alérgica. La composición de la leche materna es muy compleja ya que contiene miles de biomoléculas diferentes. Enfocándose en la composición de hidratos de carbono de la leche materna, se han aislado dos tipos de hidratos de carbono: lactosa y oligosacáridos. El componente mayor es la lactosa, que es nutricionalmente muy importante. Sin embargo, los oligosacáridos de la leche humana (OLH) son el tercer componente más importante de la leche materna, después de la lactosa y los lípidos, están compuestos por una mezcla muy compleja de más de 200 componentes, y son los hidratos de carbono no digeribles y no nutricionales presentes en la leche humana. Entre las múltiples diferencias de la composición de la leche humana y la fórmula para el lactante a base de leche de vaca, una de las diferencias cuantitativas más grandes es la presencia de estas estructuras únicas de hidratos de carbono en la leche humana y su virtual ausencia en la leche de vaca y sus derivados tales como la fórmula para el lactante. Este folleto lo ayudará a entender mejor la biología de la leche humana y sus beneficios sobre los lactantes, y cómo estos efectos pueden ser imitados de la mejor manera si la lactancia materna no es posible.

Prof. Yvan Vandenplas
Presidente

Importancia fisiológica de los OLH: ¿Por qué están en la leche de la madre?

Dr. Norbert Sprenger
 Instituto de Ciencia Nutricional,
 Departamento de ecosistema intestinal,
 Centro de Investigación Nestlé, Lausana | Suiza



Los oligosacáridos de la leche humana (OLH) no tienen valor nutritivo, y sin embargo las madres gastan una cantidad significativa de energía para sintetizarlos. Entonces, ¿qué hacen? Los estudios clínicos observacionales, así como la investigación básica colocan a los OLH como un componente multifuncional innato de la leche materna. Modelan el establecimiento de la microbiota intestinal, y, supuestamente, ayudan al desarrollo de una competencia inmunológica apropiada.

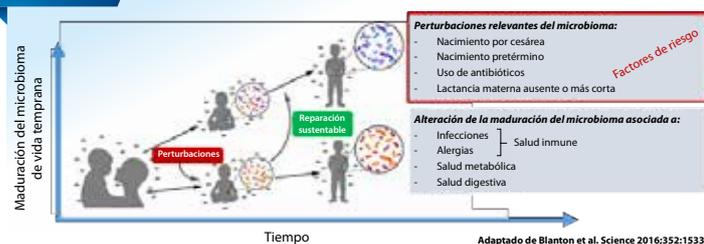
El microbioma intestinal de la vida temprana se establece y madura secuencialmente, durante la infancia y la niñez temprana, de un microbioma aeróbico a un microbioma anaeróbico orientado a la leche, y hacia un microbioma como el del adulto. Las diferentes fases de este proceso de maduración pueden caracterizarse por una progresión de las comunidades de la microbiota, partiendo de comunidades aeróbicas dominadas por *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* sobre comunidades anaeróbicas dominadas por *Bifidobacteriaceae*, hacia comunidades cada vez más diversas dominadas por *Bifidobacteriaceae* y *Lachnospiraceae*. La maduración apropiada para la edad del microbioma se considera importante para el desarrollo digestivo, metabólico e inmunológico normal (Blanton et al. *Science* 2016;22:713). El tipo de parto, el uso de antibióticos y la dieta son probablemente los factores más influyentes para este fin. (Cuadro 1).

Entre estos componentes específicos de la leche materna están los oligosacáridos de la leche humana (OLH) no digeribles, el tercer componente sólido más grande de la leche materna. Químicamente, los OLH son elongaciones del azúcar de la leche lactosa dadas por unidades de galactosa, N-acetil-glucosamina, fucosa y ácido siálico. La mayoría de los OLH, como los fucosil-oligosacáridos, no están presentes en la leche de los animales de granja, y, por lo tanto, están ausentes en la nutrición basada en productos de leche animal. En estructura y composición, los OLH se asemejan y tienen epítomos idénticos a los glicanos de la superficie mucosa que están en la interfase entre las células mucosas y el microbioma intestinal.

En contraste con los OLH, los prebióticos genéricos como los fructooligosacáridos (FOS, inulina) son elongaciones del azúcar de mesa sacarosa, dadas por unidades de fructosa. Estos son glicanos de almacenamiento típicos de las plantas generalmente consumidos desde el destete, con la introducción de alimentos complementarios sólidos a base de plantas.

Las madres gastan una cantidad considerable de energía para formar los OLH a una concentración estimada de 5 a 15 g/L de leche. La composición de los OLH varía principalmente debido al genotipo materno de las fucosiltransferasas codificadas en los genes *Secretor* y *Lewis*, así como a la etapa de la lactancia. Mientras que la mayoría de OLH disminuyen en concentración con el tiempo de la lactancia, algunos aumentan. Esto significa que, con el crecimiento de la ingesta de leche dependiente de la edad, los lactantes consumen cantidades relativamente constantes de la mayoría de los OLH por día, y cantidades crecientes de algunos. Generalmente los OLH no son digeribles y por lo tanto no tienen valor nutritivo *per se*. Cantidades pequeñas de OLH pueden volverse sistémicas y son mayormente excretadas en la orina, mientras que la mayor cantidad de OLH permanecen en el lumen intestinal. (Cuadro 2)

Cuadro 1



¿Cuáles componentes específicos de la leche materna influyen sobre la microbiota de vida temprana?

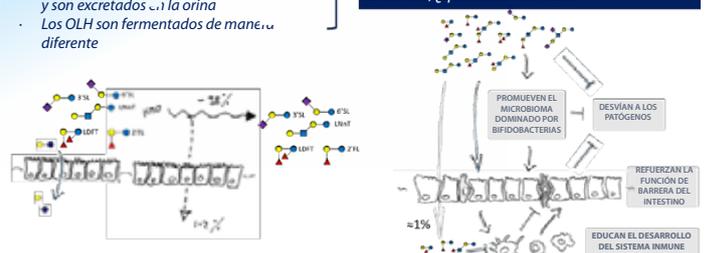
Turroni F, et al. *PLoS One* 2012;7:e36957; Arieta M-C, et al. *Front Immunol* 2014;5:427; Tamburini S, et al. *Nat Med* 2016;22:713-22; Gray J, et al. *Sci Transl Med* 2017;9:pii:eauf9412; Blanton et al. *Science* 2016;352:1533.

La lactancia materna se asocia con un menor riesgo de infecciones gastrointestinales y respiratorias, y posiblemente con un menor riesgo de diabetes y obesidad, mientras que el efecto sobre las alergias es menos claro (Victora et al. *Lancet* 2016;387:475). Esto sugiere que algunos componentes específicos de la leche materna pueden contribuir.

Cuadro 2

- Los OLH generalmente no son digeridos
- Pequeñas cantidades de OLH se absorben y son excretados en la orina
- Los OLH son fermentados de manera diferente

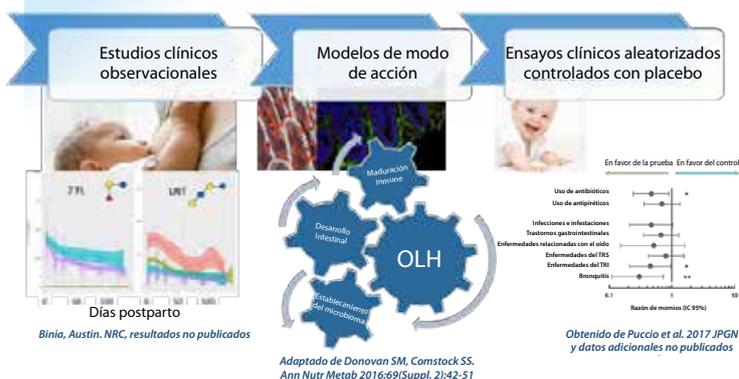
Entonces, ¿qué hacen los OLH?



Ruhaak L, et al. *Anal Bioana Chem* 2014;406:575-84; Rudloff and Kunz Adv. Nutr. 2012;3:398; Underwood MA, et al. *Pediatr Res* 2015;77:229-35. Albrecht S, et al. *Carbohydrate Research* 2011;346:2540;

Generalmente, nosotros basamos nuestras hipótesis de los posibles roles de los OLH en el crecimiento y desarrollo saludable del lactante en los estudios observacionales de asociación clínica. En un primer paso hacia el establecimiento de causalidad, investigamos la hipótesis formulada utilizando modelos del modo de acción de la investigación básica. En un segundo paso, realizamos ensayos clínicos aleatorizados de intervención. (Cuadro 3).

Cuadro 3



En cohortes de diadas madre-bebé de lactancia materna, OLH específicos corresponden con la microbiota intestinal del lactante, alergias, morbilidad, diarrea infecciosa e infecciones respiratorias. (Cuadro 4).

Cuadro 4

- Microbioma
- Crecimiento y desarrollo
- Alergias
- Infecciones

Los 2'Fucosil-OLH se asocian a una microbiota de vida temprana dominada por bifidobacterias tempranamente en bebés con lactancia materna

Los 2'Fucosil-OLH no parecen alterar el crecimiento del lactante hasta los 4 meses de edad, pero tal vez sí la composición corporal hasta los 6 meses.

Los 2'Fucosil-OLH con la manifestación de alergia por IgE hasta los 2 años de edad en los lactantes con alto riesgo nacidos por cesárea, y otros OLH posiblemente están relacionados a la APLV hasta los 18 meses. Los 2'Fucosil-OLH están relacionados con una menor incidencia de diarrea infecciosa hasta los 9 meses, menor morbilidad hasta los 4 meses, y menos infecciones respiratorias agudas hasta los 6 meses.

Lewis et al. *Microbiome* 2015; 3:13; Smith-Brown et al. *PlosONE* 2016; 11:e0161211; Matsuki et al. *Nature Comm* 2016; 7:11939; Sprenger et al. *PlosONE* 2017; 12:e0171814; Alderete et al. *AJCN*. 2017; doi: 10.3945/ajcn.115.115451; Sprenger et al. *Eur J Nutr*. 2017; 56:1293; Seppo et al. (2017) *JACI* 139:708; Morrow AL, et al. *J Pediatr* 2004;145:297-303; Davis JC, et al. *Sci Rep* 2017;7:40466; Sakwinska and Binia et al. *NRC*, resultados no publicados.

En la luz intestinal, los OLH modulan el establecimiento del microbioma intestinal a través de la promoción de un microbioma dominado por bifidobacterias. Los estudios de investigación básica han identificado diferentes cepas de bifidobacterias que pueden usar los OLH para su crecimiento, sea después de la internalización, o después de la degradación extracelular de los mismos. Interesantemente, algunos OLH específicos también refuerzan la actividad metabólica de bifidobacterias específicas, reflejándose principalmente en el aumento en la formación del ácido graso de cadena corta (agcc) acetato, que no se observa necesariamente con los prebióticos que llevan a un crecimiento similar. Los metabolitos de las bifidobacterias estimuladas por los OLH proporcionan protección inmune contra la inflamación y la invasión de patógenos en modelos preclínicos. El microbioma de vida temprana dominado por bifidobacterias, probablemente a través de sus metabolitos y la acidificación de la luz intestinal, lleva a la resistencia a la colonización de microbios nuevos y potencialmente dañinos, y, por lo tanto, representa una barrera intestinal importante.

Debido a que los OLH modulan la maduración del microbioma de vida temprana, y debido a que el microbioma afecta probablemente la eficiencia del alimento y la extracción de energía, la variación de la composición de OLH podría afectar el crecimiento y la composición corporal del lactante. Nosotros no observamos diferencias en el crecimiento a través de los 4 meses de edad en una cohorte de 25 niños y 25 niñas en relación con los 2'Fucosil-OLH (Sprenger et al. *PlosONE*, 2017;12:e0171814). Sin embargo, otro grupo observó una menor masa grasa relacionada con un mayor contenido de un 2'Fucosil-OLH específico de la leche materna en una cohorte de 25 lactantes (Alderete et al. *AJCN*. 2017; doi: 10.3945/AJCN.115.115451). Será interesante estudiar más las relaciones de los OLH con la composición corporal en cohortes más grandes.

Numerosos factores ambientales, incluyendo el microbioma, la nutrición y la genética, afectan las alergias. Entre ellos están los bioactivos de la leche materna, y, posiblemente, los OLH. En una cohorte de 266 diadas madre-bebé con riesgo hereditario de alergia, las concentraciones de 2'Fucosil-lactosa (2'FL) en la leche materna se relacionaron con un riesgo menor de manifestar eccema por IgE hasta los 2 años de edad en lactantes nacidos por cesárea solamente (Sprenger N, et al. *Eur J Nutr* 2017;56:1293-1301). Esto indica que la 2'FL podría tener un efecto inmune a través de la promoción de bifidobacterias específicas que tuvieron una menor prevalencia en los lactantes nacidos por cesárea hasta los 6 meses de edad en esta cohorte (Kuitunen et al. *JACI* 2009;123:335). Cabe destacar que *Bifidobacterium breve* se relacionó con un menor riesgo de eccema, y la 2'FL, con abundancia de cepas específicas de *B. breve* y su actividad metabólica (*Pediatric Allergy and Immunology* 2016;27:838. Matsuki et al. *Nature Comm* 2016;7:11939). Además, los OLH como la 2'FL y otro fucosil-OLH más grande (LNFP III) interactúan con la lectina de las células dendríticas DC-SIGN, que podría modular el desarrollo inmune. Otro grupo encontró que el LNFP III se relacionó con la alergia a proteína de la leche de vaca (APLV) a los 18 meses de edad en una cohorte de 39 madres con bebés con APLV y 41 madres con bebés sanos (Sepepo et al. (2017) *JACI* 139;708). Ellos especularon que el LNFP III podría haber actuado a través del DC-SIGN. En un modelo de ratón de alergia alimentaria, se probaron la 2'FL y la 6'sialil-lactosa (6'SL), y ambas disminuyeron los síntomas, a través de la modulación de la respuesta de los mastocitos (Castillo-Courtade L et al. (2015) *Allergy*. 70:1091).

Debido a que los OLH asemejan glicanos de la mucosa y se escapan en gran parte de la fermentación completa, pueden actuar como señuelos solubles previniendo la adhesión de patógenos a las células de la mucosa. Además de los glicanos, las células de la mucosa y las células inmunes son también ricas en lectinas (glicanos que se unen a proteínas) y se vio que algunas se unieron a OLH específicos. Los ejemplos son DC-SIGN, galectinas y Siglecs. Si los cambios observados en los epitelios y en las células inmunes con el tratamiento con OLH específicos son mediados a través de estas lectinas, queda por demostrarse. En conjunto, estos mecanismos propuestos, incluyendo la resistencia a la colonización antes mencionada y la importancia del microbioma para el desarrollo inmune, sugieren que los OLH contribuyen a la protección de infecciones en el tracto gastrointestinal y probablemente en otros sitios de la mucosa tales como el tracto respiratorio.

En una cohorte de madres y lactantes mexicanos (n=93), los 2'Fucosil-OLH de la leche materna se relacionaron con una tasa menor de incidencia de diarrea infecciosa hasta los 9 meses de edad, causada principalmente por *Campylobacter jejuni*, pero también por

Estudios clínicos: ¿Qué se sabe y qué necesita estudios adicionales?

Dr. Philippe Alliet
Hospital Jessa
Departamento de Pediatría
Hasselt | Bélgica



Los OLH son el tercer componente más importante de la leche humana, más importantes como sólidos que la fracción proteica. Y esa es una gran diferencia con las fórmulas para lactantes y la leche de vaca, en donde esta parte no está presente.

Los oligosacáridos son muy complejos, muy abundantes, y su proporción no es similar durante todo el periodo de lactancia.

Se han identificado más de 150 OLH diferentes. Para simplificar más los 150, podemos de acuerdo con los diferentes monosacáridos, presentarlos en tres categorías. (Cuadro 1).

Dos de ellos son más abundantes: 2'FL y LNnT. Y por estudios *in vitro* sabemos que hay una evidencia que se está acumulando que sugiere que pueden apoyar las funciones gastrointestinales e inmunes de los bebés con lactancia materna. Los mecanismos que han sido propuestos son los efectos sobre el crecimiento, la función y el establecimiento de la microbiota, la protección de la infección, y efectos sobre la alergia y la competencia inmune. Una de las formas en las que se piensa que pudieran ayudar contra las infecciones es que tienen similitudes con algunos receptores de ciertas bacterias gastrointestinales, y podrían interactuar o prevenir la adherencia de esos microbios a los receptores intestinales.

Nosotros llevamos a cabo en dos centros en Palermo, Italia, y en Hasselt, Bélgica, este estudio aleatorizado y controlado con fórmula para el lactante suplementada con 2 oligosacáridos sintéticos de la leche humana (Alliet et al *JPGN* 2017;64:624-631). El objetivo global de este estudio de seguridad fue el efecto de esta fórmula suplementada con estos dos oligosacáridos sintéticos de la leche humana sobre el crecimiento, la tolerancia digestiva y la morbilidad, en lactantes sanos. En los objetivos relacionados con la microbiota comparamos el perfil de la microbiota y la firma metabólica en lactantes en que se administró la fórmula de prueba (FP) y la fórmula control (FC), y hubo también un grupo no aleatorizado de bebés que recibieron lactancia materna (LM).

La hipótesis fue que el perfil de la microbiota y la firma metabólica en los lactantes alimentados con la FP (vs. la FC) estaría más cercano al de los lactantes con LM.

Los lactantes se incluyeron antes de las 2 semanas de edad. Después del consentimiento informado se les practicó examen médico y antropometría. Luego se distribuyeron en forma aleatoria a la fórmula de prueba o a la fórmula control. (Cuadro 2).

Fueron vistos a los 1, 2, 3, 4, y 6 meses, que fue el final del tratamiento. Todos los lactantes recibieron una fórmula estándar de seguimiento de los 6 a los 12 meses, y fueron vistos de nuevo a los 12 meses. El alimento complementario se inició a los 4 meses de edad, y se registró la tolerancia digestiva y los efectos adversos en un diario llevado por los padres. (Cuadro 3).

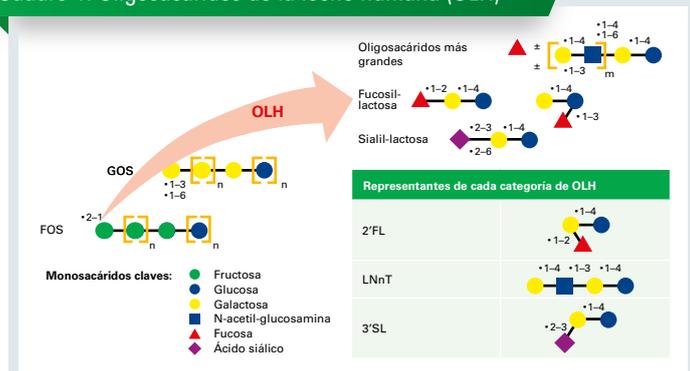
Características basales

Se incluyeron 175 lactantes, y la mayoría fueron seguidos a los 6 y 12 meses. Las características basales fueron comparables entre los grupos de FP y FC. La media de la diferencia del aumento de peso (FP vs. FC) fue -0.30 g/día (IC 95% -1.94–1.34, $p=0.72$), dentro del margen de no inferioridad. Los lactantes que recibieron la FP vs. la FC no difirieron en peso, longitud, circunferencia de la cabeza, IMC, o scores-z a través de los 12 meses.

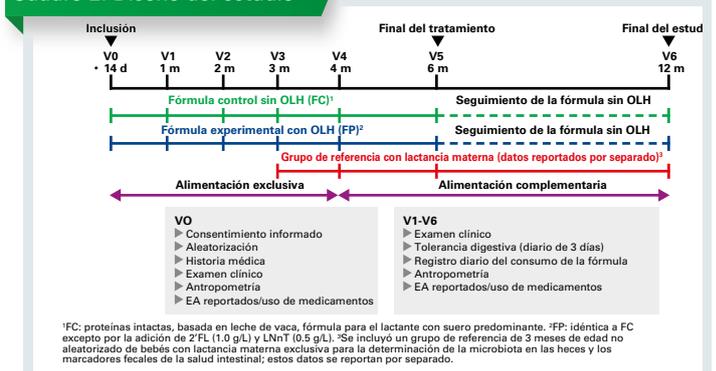
Las Mediciones de la Tolerancia Digestiva fueron generalmente similares entre los grupos:

- sin diferencias en la consistencia de las evacuaciones, excepto a los 2 meses (más blandas con la FP vs. la FC)
- sin diferencias en la frecuencia de las evacuaciones entre los grupos de FP y FC
- los patrones de síntomas GI y del comportamiento fueron similares entre los grupos

Cuadro 1: Oligosacáridos de la leche humana (OLH)



Cuadro 2: Diseño del estudio



Composición bacteriana

Hubo una gran distinción entre los grupos de FP y FC.

- La fórmula conteniendo 2'FL y LNnT cambió la composición global de la microbiota intestinal más cercana a la de los bebés con lactancia materna. (Cuadro 4)
- La fórmula con 2'FL y LNnT promovió la colonización de bifidobacterias potencialmente benéficas y disminuyó los taxones con miembros potencialmente patógenos.
- La firma metabólica de las heces de la FP fue más cercana a la de la LM, consistente con los hallazgos en la composición y diversidad bacteriana.
- La composición bacteriana alterada puede resultar en disminución de la fermentación de las proteínas en la FP vs. la FC.

Resultados clínicos

La única forma en que pudimos observar los resultados clínicos en este estudio fue utilizando los eventos adversos reportados, identificados a priori, y el uso de medicamentos.

- Los lactantes que recibieron FP (vs. FC) tuvieron una menor probabilidad de presentar bronquitis hasta los 4 meses (RM 0.16, IC 0.02-0.78, $p=0.010$), 6 meses ($p=0.005$) y 12 meses ($p=0.004$), y menos infecciones del tracto respiratorio hasta los 12 meses (RM 0.45, IC 95% 0.21-0.95, $p=0.027$).
- Los lactantes que recibieron la FP tuvieron también menor probabilidad de recibir antipiréticos hasta los 4 meses (RM 0.44, IC 95% 0.20-0.98, $p=0.032$), y antibióticos hasta los 6 meses (RM 0.53, IC 95% 0.28-1.02, $p=0.047$) y los 12 meses ($p=0.016$).

Por supuesto tenemos que ser cuidadosos en la interpretación de estos resultados ya que fueron objetivos finales secundarios del estudio.

Tipos de comunidad fecal en los lactantes a los 3 meses

Si se combinan todos los datos de los pacientes incluidos, se pueden encontrar 3 tipos de comunidad fecal (TCF), principalmente

- TCF A: bajo en bifidobacterias, alto en *enterobacteriaceae/lachnospiraceae*
- TCF B: alto en bifidobacterias y bajo en otras
- TCF C: medio en bifidobacterias y también en otras

Cuadro 3: Reporte de EA (morbilidad)

- Los padres mantuvieron un diario para registrar las enfermedades del lactante, la fiebre, los síntomas, y el uso de medicamentos
- Esta información se revisó y fue confirmada por los médicos del estudio en cada visita antes de ser registrada como EA
- Los EA fueron luego codificados y clasificados por un solo médico (no involucrado en la conducción del estudio) utilizando categorías SOC y TP
- Varios TP de EA de interés fueron identificados a priori, p. ej., infección respiratoria superior, bronquitis, otitis media y gastroenteritis
- Se identificaron tres grupos de EA: infección respiratoria superior, infección del tracto respiratorio inferior y otitis/infección del oído
- El uso de medicamentos se clasificó en grupos según fue apropiado, incluyendo antibióticos, antipiréticos y medicamentos para la ERGE

EA: eventos adversos; SOC: sistema, órgano y clase; TP: términos preferidos; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico

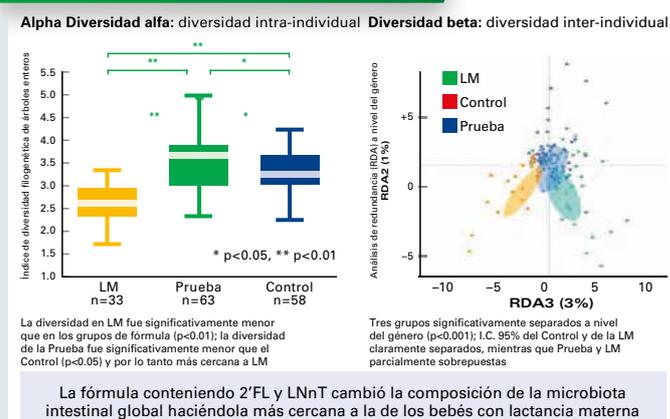
Cuando miramos de nuevo en los tres grupos de nuestro estudio (FP, FC, LM) vemos de nuevo una gran diferencia entre la lactancia materna y la alimentación con fórmula. Pero parece que en el grupo de prueba (FP) el TCF B fue mayor, y el TCF C fue menor que en el grupo control (FC). (Cuadro 5).

Y si comparamos esto con el uso de antibióticos pareció que especialmente el TCF C fue más prominente en el grupo que estuvo recibiendo antibióticos. Todos estos datos parecen ir en la misma dirección, y son concordantes con los datos in vitro. Pero, por supuesto esto necesita una mayor investigación para confirmar estos resultados.

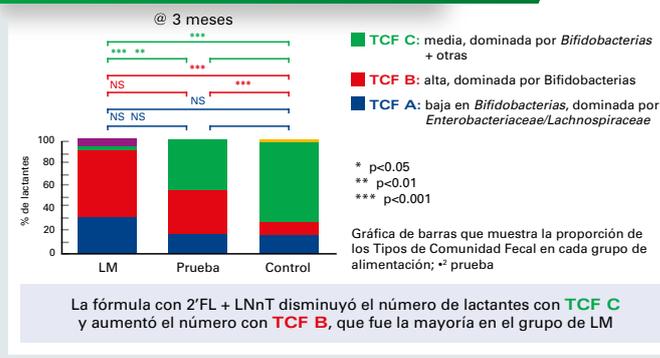
Conclusión

- Los primeros datos clínicos demuestran que los OLH sintéticos son seguros y bien tolerados (estructuralmente idénticos a los encontrados en la leche humana)
- Los primeros datos clínicos muestran que la fórmula con 2'FL + LNnT promueve el Tipo B de Comunidad Fecal observado en los bebés con lactancia materna
- La probabilidad disminuida del uso de antibióticos con 2'FL + LNnT puede estar relacionada con los Tipos de Comunidad Fecal
- Después de estos primeros resultados de salud prometedores, se requieren más estudios para establecer eficacia

Cuadro 4: Diversidad bacteriana a los 3 meses



Cuadro 5: Distribución de los tipos de comunidad fecal



Su **socio de confianza** para información y **educación** nutricional **científica**

El Instituto de Nutrición Nestlé (NNI) es una organización que existe para promover el avance de la ciencia de la nutrición. Desde 1981 hemos estado comprometidos a apoyar a la comunidad académica, estimulando el debate y construyendo el conocimiento.



Nuestro compromiso hoy es tan fuerte como siempre.

Al compartir la información y la educación basadas en la ciencia, el Instituto fomenta la "Ciencia para una Mejor Nutrición" para contribuir a una mejor calidad de vida de las personas de todo el mundo.



APRENDA

Acceso al contenido de algunos de los expertos más renombrados del mundo a través de más de 3,000 publicaciones de nutrición y cientos de presentaciones de video exclusivas



ENTIENDA

Al proporcionar una amplia gama de cursos de e-learning en línea, le ponemos al día con la información científica basada en evidencia más reciente



CREZCA

Fellowships de entrenamiento de posgrado exclusivos disponibles en instituciones líderes para apoyar el desarrollo de la siguiente generación de jóvenes profesionales de la salud.