***Edusfarm 8** (2016), 163-192*
ISSN: 1886-6271

Rebut: 16 d'octubre de 2016
Acceptat:14 de novembre de 2016

INFLUÈNCIA DELS COMPONENTS BIOACTIUS PRESENTS EN LA LLET MATERNA SOBRE EL SISTEMA IMMUNITARI DEL NOUNAT

Giralt Dejuan, Anna;[1] Franch Masferrer, Àngels
Secció de Fisiologia. Departament de Bioquímica i Fisiologia.
Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació. Universitat de Barcelona.

Abstract
Human milk provides the optimal nutrition for new-borns, as it produces nutrient patterns adapted to their physiological requirements. At the same time, the functionality of the *new-born immune system* is immature and it has been demonstrated that nutrition during the postnatal period determines its development. This project is focused on understanding the *bioactive components* of human milk and on classifying them according to their beneficial activity on the new-born immune system. Five groups of compounds have been considered: 1) antimicrobial, 2) promoting immune system development, 3) tolerogen, 4) anti-inflammatory, and 5) probiotic. Recent advances in understanding of the composition of human milk have paved the way for the production of *infant formulas* increasingly suitable to infants. This project has furthered the study of clinical trials as well as the consequent benefits of the addition of *oligosaccharides* to infant formulas intended for babies.

Keywords: bioactive components, human milk, immune system, new-born, infant formulas.

Resumen
La *leche humana* se considera el alimento ideal para el recién nacido y presenta un patrón de nutrientes que se adapta a sus necesidades fisiológicas. Por otra parte, la funcionalidad del *sistema inmunitario (SI) neonatal* es inmadura y se ha demostrado que la nutrición durante el periodo posnatal condicionará su desarrollo. Este trabajo se ha centrado en conocer los *componentes bioactivos* de la leche humana y clasificarlos en función de su actividad beneficiosa en el SI del neonato. Se han considerado cinco grupos de compuestos: 1) antiinfecciosos; 2) los que promueven el desarrollo del SI; 3) tolerógenos; 4) antiinflamatorios, y 5) probióticos. Los avances en el conocimiento de la composición de la leche humana han permitido la elaboración de *fórmulas infantiles* cada vez más adecuadas para el lactante. En este trabajo se ha profundizado, mediante la revisión de ensayos clínicos, en los efectos beneficiosos consiguientes a la adición de *oligosacáridos* a las fórmulas infantiles destinadas a lactantes.

Palabras clave: componentes bioactivos, leche humana, sistema inmunitario, neonato, fórmulas infantiles.

Resum
La *llet humana* es considera l'aliment ideal per al nounat i presenta un patró de nutrients que s'adapta a les necessitats fisiològiques del nadó. D'altra banda, la funcionalitat del *sistema immunitari (SI) del nounat* és immadura i s'ha demostrat que la nutrició en el període postnatal condicionarà el seu desenvolupament. Aquest treball s'ha centrat a conèixer els *components bioactius* de la llet humana i classificar-los en funció de la seva activitat beneficiosa sobre el SI del nadó. S'han considerat cinc grups de compostos: 1) antiinfecciosos, 2) que promouen el desenvolupament del SI, 3) tolerògens, 4) antiinflamatoris, i 5) probiòtics. Els avenços en el coneixement de la composició de la llet humana han permès l'elaboració de *fórmules infantils*,

[1] Graduada en farmàcia (2011-2016). Pràctiques tutelades en farmàcia hospitalària (Clínica Girona). Pràctiques d'empresa en laboratori d'anàlisis clíniques (2015). Experiència professional en farmàcia comunitària (del 2015 fins a l'actualitat). Previsió de fer un màster en formació de professorat (Universitat de Girona) (anngide93@gmail.com).

©Universitat de Barcelona

cada vegada més adequades al lactant. En aquest treball s'ha aprofundit, mitjançant la revisió d'assaigs clínics, en els efectes beneficiosos consegüents a l'addició *d'oligosacàrids* a fórmules infantils destinades a lactants.

Paraules clau: components bioactius, llet humana, sistema immunitari, nounat, fórmules infantils.

1. Introducció

1.1. Llet humana i salut del lactant

L'Organització Mundial de la Salut (OMS) considera que la lactància materna és l'*aliment ideal per al nounat*, ja que li proporciona els nutrients necessaris per al seu creixement i desenvolupament saludable. Per al conjunt de la població, l'OMS recomana iniciar la lactància materna durant la primera hora de vida i mantenir-la com a forma exclusiva d'alimentació durant els sis primers mesos. Posteriorment, es recomana seguir la lactància materna fins als dos anys d'edat, complementada adequadament amb altres aliments innocus (OMS, 2001).

En l'actualitat, es disposa de nombroses dades epidemiològiques que demostren els beneficis de la llet materna en la salut del lactant. Així, s'ha demostrat que la llet humana confereix protecció enfront d'infeccions gastrointestinals i respiratòries. També s'ha observat que redueix la incidència de trastorns al·lèrgics en nens amb antecedents familiars. Hi ha estudis que mostren una associació entre la lactància materna i una menor incidència de malalties immunomediades (malaltia inflamatòria intestinal, diabetis tipus 1, malaltia celíaca, entre d'altres) (Lawrence, 2011; Lanari *et al.*, 2012).

A més a més, la lactància materna millora el desenvolupament físic, emocional i cognitiu de la població pediàtrica (McCrory i Murray, 2013). Tenint en compte aquestes i altres premisses, l'OMS afirma que la lactància materna redueix la mortalitat infantil i que els seus beneficis sobre la salut del lactant tenen repercussions tant a curt com a llarg termini (OMS, 2015).

Malgrat tots els beneficis de la lactància materna i les recomanacions per part d'institucions i professionals de la salut, un percentatge elevat de lactants són alimentats amb fórmules infantils als sis mesos (54%) i a l'any de vida (78%) (Jardí Piñana *et al.*, 2015).

A diferència de les fórmules infantils, que estan estandarditzades, la *composició de la llet* humana és *dinàmica* i presenta variacions al llarg del dia, del període de lactància i en funció de factors materns i ambientals (Ballard i Morrow, 2013). El patró de nutrients es modifica al llarg de la lactància, ja que s'adapta a les necessitats nutritives i immunològiques del nounat i li aporta els components necessaris, en les quantitats adequades i durant un període de temps determinat (Walker, 2004).

Així, durant la lactància es poden diferenciar tres tipus de secreció làctia (Lawrence i Pane, 2007):

- **Calostre:** és el primer fluid secretat després del part i es distingeix de la llet pel volum, l'aparença i la composició. El calostre, produït en baixes quantitats en els primers 4-5 dies postpart, té un baix contingut en lípids, però és molt ric en proteïnes de gran qualitat. Concretament, conté concentracions elevades de components immunitaris com la immunoglobulina (Ig) A, lactoferrina, leucòcits, oligosacàrids i factors de creixement.

©Universitat de Barcelona

- **Llet de transició:** aquest fluid se secreta entre el cinquè i el catorzè dia postpart i comparteix algunes característiques amb el calostre, tot i que la seva producció és superior per cobrir les necessitats nutricionals i de creixement del nadó. També conté Ig i proteïnes, però en menor concentració que el calostre, mentre que la proporció de lactosa i lípids augmenta fins a arribar a valors corresponents als de la llet madura.
- **Llet madura:** és el fluid que se secreta a partir de les dues setmanes postpart i fins al final de la lactància. Tot i que, en general, la concentració de factors bioactius és menor que en la llet de transició i la calostre, la seva composició roman relativament estable fins al final de la lactància.

1.2. Sistema immunitari del nounat

El *sistema immunitari (SI)* té la funció de protegir l'individu enfront de microorganismes infecciosos i/o substàncies estranyes. També és el responsable de la tolerància de l'organisme enfront d'elements propis, aliments, microbiota, i d'altres components ambientals.

Clàssicament, la funció del SI es classifica en immunitat innata i adaptativa. La primera inclou la pell i barreres mucoses, la fagocitosi que realitzen neutròfils, monòcits i macròfags i la citotoxicitat mitjançada per cèl·lules *natural killer* (NK), entre d'altres. La immunitat adaptativa correspon a l'activitat desenvolupada per limfòcits T *helper* (Th o CD4+), T citotòxics (Tc o CD8+) i limfòcits B, i la producció consegüent d'anticossos i citocines (Abbas *et al*., 2015).

El desenvolupament del SI humà s'inicia durant la gestació i no és totalment funcional fins passats els primers anys de vida (Melville i Moss, 2013). El de després del naixement, malgrat que el SI desenvolupa progressivament la seva capacitat defensiva, és un període caracteritzat per una incidència elevada d'infeccions. Aquesta immaduresa del SI del nounat té una forta repercussió en la immunitat adaptativa, que encara ha de desenvolupar les seves característiques d'especificitat i memòria. Per tant, el SI innat serà el principal responsable de la resposta immunitària del nadó (Maródi, 2006).

1.2.1. Immunitat innata neonatal

La *immunitat innata* constitueix el primer mecanisme de defensa enfront d'agents externs i, a diferència de la resposta immunitària adaptativa, no requereix una reordenació genètica ni el contacte previ amb l'antigen (Abbas *et al*., 2015).

Els *neutròfils* són els leucòcits més abundants en sang i són els responsables de captar i destruir patògens durant una infecció. S'ha descrit que els nounats presenten deficiències en els neutròfils, tant quantitatives com qualitatives, en relació amb l'adult (Melvan *et al.*, 2010). La funció dels neutròfils comporta la seva adhesió a l'endoteli vascular i la migració posterior per atracció quimiotàctica fins al focus de la infecció per captar i destruir el patogen. En el nounat, en relació amb l'adult, els neutròfils expressen nivells més baixos de molècules d'adhesió a l'endoteli vascular i una menor resposta a factors quimiotàctics. Aquestes característiques comporten una reducció en la transmigració d'aquestes cèl·lules cap al focus d'infecció. D'altra banda, els neutròfils del nadó tenen també una menor capacitat fagocítica i habilitat per a degradar els patògens intracel·lulars que han ingerit (Howard i Meyer, 1984).

©Universitat de Barcelona

Les *cèl·lules NK* són limfòcits granulars grans que exerceixen una funció clau en el control d'infeccions virals. Es caracteritzen per la seva activitat citolítica i la producció d'interferó (IFN)-γ. En les primeres etapes de vida, les cèl·lules NK són més immadures i presenten una menor capacitat de desgranulació i alliberament de factors lítics, en relació amb l'adult (Guilmot *et al.*, 2011). Aquestes deficiències en la funcionalitat de les cèl·lules NK es poden atribuir tant a defectes intrínsecs de les cèl·lules precursores com a un dèficit de factors extrínsecs implicats en la seva maduració (Dowling i Levy, 2014). S'ha descrit que les cèl·lules NK de la sang de cordó umbilical presenten una capacitat citotòxica tres vegades inferior en comparació a la de l'adult. Aquestes diferències justifiquen l'elevada susceptibilitat del nadó a patir infeccions virals (Dalle *et al.*, 2005).

Les *cèl·lules presentadores d'antigen (APC)* són fonamentals per a la inducció de la resposta immunitària adaptativa i l'adquisició de tolerància. S'ha demostrat que els monòcits neonatals circulants expressen nivells més baixos de molècules del complex d'histocompatibilitat principal de classe II (MHC-II), fet que contribueix a una menor funcionalitat com a APC. D'altra banda, en el nounat també s'han descrit deficiències en les cèl·lules dendrítiques, tant en la maduració com en la funcionalitat (Willems *et al*., 2009). Aquestes diferències en les APC del nounat poden limitar el desenvolupant de respostes immunitàries efectives.

1.2.2. Immunitat adaptativa neonatal

La *immunitat adaptativa*, que inclou limfòcits B i T, és específica d'antigen i requereix l'adquisició de memòria immunològica. Històricament, la resposta immunitària adaptativa del nounat ha estat considerada immadura. Aquesta immaduresa es pot atribuir al fet que durant la gestació (*in utero*) l'exposició del SI a antígens és molt limitada. Les poblacions de limfòcits T i B són més reduïdes que en l'adult i requereixen l'expansió clonal, que té lloc durant les primeres setmanes de vida (Walker *et al.*, 2011). Al moment de néixer, la majoria de limfòcits T i B són verges i, per tant, la població de limfòcits efectors memòria és molt reduïda (Adkins, 2007). En aquest sentit, en el nounat s'han descrit deficiències en l'activació de limfòcits T i producció de citocines, en la producció d'anticossos per part de limfòcits B i, també, en les interaccions entre aquestes dues poblacions (Melville i Moss, 2013; Basha *et al*., 2014).

En relació amb els *limfòcits T*, implicats en la immunitat cel·lular, s'ha descrit que els del nounat presenten una funcionalitat deficient que s'atribueix a una proporció molt elevada de limfòcits T verges circulants i a un nombre reduït de limfòcits T memòria (Walker *et al.*, 2011). Aquest increment en la població de limfòcits T verges és el resultat d'una presentació antigènica poc eficient i una baixa expressió de molècules MHC-II en les APC (Strunk *et al.*, 2011).

Els *limfòcits Tc* són importants en la defensa contra infeccions intracel·lulars i en la immunitat antiviral i antitumoral. Estudis realitzats en sang humana de cordó umbilical han demostrat una deficiència tant en el seu nombre com en la seva funció citotòxica (Basha *et al*., 2014).

Respecte als *limfòcits Th*, un cop activats, poden diferenciar-se fonamentalment en les *subpoblacions Th1 i Th2*, que secreten un perfil diferent de citocines. El fenotip Th1, classificat com a inflamatori, produeix IFN-γ, interleucina (IL)-2 i factor de necrosi tumoral (TNF). El fenotip Th2, considerat antiinflamatori, produeix citocines com IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13. S'ha descrit que els limfòcits Th neonatals presenten una clara polarit-

©Universitat de Barcelona

zació cap a una resposta de tipus Th2 i una producció reduïda de citocines de tipus Th1, fet que podria explicar la vulnerabilitat dels nounats a patir infeccions (Melville i Moss, 2013).

A part de les subpoblacions Th1 i Th2, els limfòcits Th activats poden diferenciar-se a *cèl·lules T reguladores (Treg)*. Aquestes cèl·lules, que expressen CD4, CD25 i Foxp3, són essencials per a la tolerància immunitària i eviten que la resposta immunitària sigui excessiva (Basha *et al*., 2014). En relació amb l'adult, els nounats presenten un elevat percentatge de cèl·lules Treg (Burt, 2013).

Pel que fa als *limfòcits B* del nounat, són fonamentalment verges a causa d'una manca d'exposició a l'antigen. A més, presenten un repertori d'Ig de superfície limitat i poc desenvolupat. En aquesta primera etapa de vida, la producció d'anticossos és molt limitada, fet que s'atribueix a diferents factors com la immaduresa dels limfòcits B, la poca diferenciació a cèl·lules plasmàtiques i la limitada senyalització a través dels seus receptors específics per a l'antigen(Dowling i Levy, 2014).

2. Objectius

Els objectius específics d'aquest treball final de grau han estat:

- Conèixer la repercussió de la *lactància materna* sobre la salut del nounat i, concretament, sobre el *desenvolupament del seu sistema immunitari* durant les primeres etapes de vida.
- Identificar els *components bioactius* presents en la llet humana i classificar-los en funció de la seva activitat biològica sobre el sistema immunitari del nounat.
- Esbrinar els mecanismes d'acció dels principals components bioactius responsables de l'*activitat antiinfecciosa* i *immunomoduladora* de la llet humana.
- Aprofundir en els beneficis resultants de l'addició d'*oligosacàrid*s a les fórmules infantils destinades a lactants.
- Avaluar l'addició d'oligosacàrids a *fórmules infantils* d'inici i de continuació comercialitzades a l'Estat espanyol.

3. Materials i mètodes

Per tal d'assolir els objectius proposats, en una primera fase s'ha realitzat una cerca en la *base de dades PubMed* de les revisions més destacades, introduint les paraules clau *breast milk* o *human milk*. S'han seleccionat els *articles de revisió* més recents i focalitzats en components bioactius de la *llet humana* i la seva funció sobre el SI del nounat. També s'han revisat i consultat *llibres generals* de nutrició i d'immunologia, entre d'altres.

En relació amb l'apartat de *lactància artificial*, s'ha realitzat una cerca sobre *fórmules infantils* per conèixer més a fons els components de la llet humana i verificar quins s'estan afegint a les fórmules infantils comercialitzades actualment i amb quines bases científiques. Aquesta cerca s'ha limitat a *assaigs clínics* publicats els darrers deu anys. Per a aquest treball s'han seleccionat els *oligosacàrids*, ja que es disposa d'un ampli ventall d'assaigs clínics que posen de manifest la seva activitat biològica quan s'addicionen com a ingredients funcionals a les fórmules infantils. També s'ha cercat informació a les pàgines web de diferents laboratoris sobre la composició qualitativa i quantitativa d'oli-

©Universitat de Barcelona

gosacàrids addicionats a fórmules infantils d'inici i de continuació comercialitzades a l'Estat espanyol.

4. Resultats i discussió

4.1. Els components bioactius de la llet humana

Els *components bioactius de la llet humana* exerceixen múltiples efectes beneficiosos sobre el SI del nounat, no només oferint protecció enfront d'infeccions, sinó també promovent el desenvolupament del SI, facilitant l'adquisició de tolerància i controlant la resposta inflamatòria. En aquest treball, s'ha realitzat una *classificació* dels factors bioactius presents a la llet en funció de la seva activitat principal en cinc grups de components: *1) antiinfecciosos, 2) que promouen el desenvolupament del SI, 3) toleròGens, 4) antiinflamatoris, i 5) probiòtics*.

Aquesta classificació és només orientativa, ja que hi ha diferents compostos de la llet que exerceixen al mateix temps diverses activitats, per la qual cosa resulta difícil adscriure'ls a un únic grup. De tota manera, és una classificació útil perquè permet una visió global de la repercussió dels diferents components sobre el desenvolupament i la salut del lactant.

4.1.1. Components antiinfecciosos de la llet humana

La llet humana conté una gran varietat de substàncies amb activitat antiinfecciosa capaces de protegir la glàndula mamària i el lactant. diversos estudis epidemiològics posen de manifest una disminució tant en la incidència com en la gravetat d'infeccions gastrointestinals i respiratòries en nens alimentats amb llet materna.

La llista de components antiinfecciosos va augmentant gradualment i la seva activitat és molt variada. Poden actuar sobre patògens específics, famílies de patògens i múltiples famílies simultàniament; el seu mecanisme d'acció pot variar des d'un efecte directe a un d'indirecte, sense que la seva activitat comporti una resposta inflamatòria. També s'ha descrit una sinergia de l'acció de diferents factors que permet una elevada protecció a concentracions relativament baixes. A continuació, es comenten els principals factors bioactius responsables de l'activitat antiinfecciosa.

4.1.1.1. Immunoglobulines

Les immunoglobulines (Ig) són glicoproteïnes d'elevat pes molecular que actuen com a anticossos i exerceixen una funció de defensa de l'organisme. La capacitat del nounat per produir-ne és escassa, però la llet materna és molt rica en *IgA secretòria (IgA-s)*, que representa l'isotip majoritari a la llet (80-90%), seguida d'IgG i IgM. La seva concentració és superior en calostre (12 g/L) que en llet madura (1g/L), i s'estima que el lactant ingereix diàriament entre 0,5 i 1 g d'IgA-s (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Ballard i Morrow, 2013).

La IgA-s consta d'un dímer d'IgA unit covalentment a través de la cadena J i d'un component secretor que permet a l'anticòs travessar les cèl·lules epitelials de la mucosa i incorporar-se a les secrecions. Aquesta estructura és responsable de la seva resistència enfront

©Universitat de Barcelona

Edusfarm 8 (2016), 163-192
ISSN: 1886-6271

de la digestió per part d'enzims proteolítics del tracte gastrointestinal del nounat. La IgA-s constitueix el principal mecanisme de defensa específica en mucoses, que són les principals portes d'entrada per a la majoria d'agents infecciosos (Hosea Blewett *et al.*, 2008).

La IgA-s de la llet és sintetitzada per limfòcits B de la glàndula mamària que procedeixen de l'intestí de la mare a través de la circulació enteromamària. Quan la mare s'exposa a un nou patogen entèric, l'antigen penetra a les plaques de Peyer, on es desencadena una resposta immunitària. En aquest teixit limfoide, l'antigen interacciona amb les cèl·lules dendrítiques i s'activen els limfòcits T i B. Els limfòcits B experimenten un canvi d'isotip i sintetitzen IgA. Aquests migren cap a les mucoses i glàndules exocrines —com la glàndula mamària——, on produeixen IgA-s. A través de la llet materna, la IgA-s arriba intacta a la mucosa intestinal del nounat, on s'acumula, i el protegeix enfront de patògens que envaeixen les mucoses, als quals la mare ha estat exposada prèviament (Brandtzaeg, 2003) (figura 1).

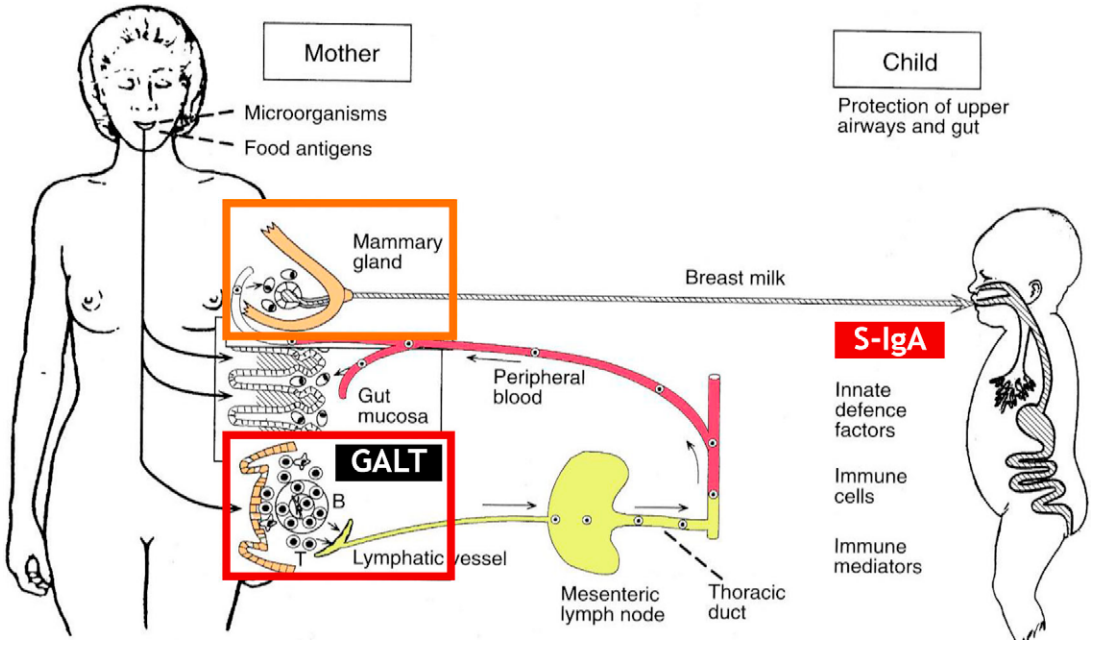

Figura 1. Origen de la IgA-s present en llet humana. La IgA-s de la mare produïda en resposta a un nou patogen entèric és sintetitzada per limfòcits B procedents de l'intestí que migren cap a la glàndula mamària a través de la circulació enteromamària. Modificada de Brandtzaeg, 2003.

La IgA-s adquireix *capacitat antiinfecciosa* per tres vies diferents: evita l'adhesió de bacteris i virus a les superfícies mucoses de l'organisme del lactant, és a dir, mitjançant una «exclusió immunitària», neutralitza les toxines microbianes i incrementa l'excreció vírica. Gràcies a aquests processos pot prevenir l'establiment de patògens a l'intestí i evitar una resposta inflamatòria (Van De Perre, 2003)IgG from breast milk in many animal species (rodents, bovines, cats, ferrets, etc..

Altres accions beneficioses que poden dur a terme algunes IgA-s específiques són: limitar la resposta inflamatòria iniciada per altres anticossos, interferir amb factors de creixement i enzims necessaris per als bacteris patògens i paràsits i facilitar la immunitat de la mucosa potenciant la captació d'antígens per part de les cèl·lules M del teixit limfoide associat a l'intestí (GALT) (Hosea Blewett *et al.*, 2008).

©Universitat de Barcelona

Alguns dels microorganismes contra els quals s'ha descrit efectivitat per part de les IgA-s que es troben a la llet materna són *Escherichia coli*, *Vibrio choleræ*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Haemophilus influenzæ, Clostridium difficile*, *Rotavirus*, *Cytomegalovirus*, VIH, *Influenza virus*, virus respiratori sincital, pneumococs i *Candida albicans* (Lönnerdal, 2003).

4.1.1.2. Lactoferrina

És una de les principals proteïnes sèriques de la llet amb gran capacitat microbicida i és resistent a la digestió gastrointestinal. Actua principalment en el seu estat lliure de ferro (apolactoferrina) i el seu potencial microbicida s'incrementa proporcionalment a la seva concentració, que és de 7 g/L en calostre i d'1 g/L en llet madura (Lawrence, 2011).

La capacitat antiinfecciosa de la lactoferrina pot atribuir-se a diferents mecanismes. D'una banda, és capaç d'enllaçar i retenir dos àtoms de ferro, element essencial per a molts patògens. D'altra banda, exerceix una *activitat bacteriostàtica* directa contra bacteris, virus i fongs. Es creu que la lactoferrina només té efectes beneficiosos quan es consumeix directament en la llet materna, ja que quan s'addiciona a fórmules infantils minven les seves propietats (Lönnerdal, 2003 i 2016).

Part de l'*activitat bactericida* de la lactoferrina s'atribueix a productes de degradació com la lactoferricina B i H. La lactoferricina té propietats antibacterianes enfront d'un ampli ventall de bacteris i no inhibeix el creixement dels bifidobacteris. Actua mitjançant la inhibició de l'adhesió bacteriana a les cèl·lules intestinals i posseeix activitat citotòxica enfront de virus i fongs (León-Sicairos *et al.*, 2006).

Finalment, alguns estudis recents (Donovan, 2016) posen en evidència que la lactoferrina té també una potent activitat immunomoduladora. En aquest sentit, s'ha demostrat en estudis preclínics que promou el desenvolupament del SI i modifica la proporció entre les subpoblacions Th1 i Th2, a favor d'una resposta de tipus Th1.

4.1.1.3. Oligosacàrids

Són un grup molt heterogeni de carbohidrats i representen el tercer component més abundant en la llet humana. Els oligosacàrids presents en la llet humana (*Human Milk Oligosacharides*, HMO) varien al llarg de la lactància i la seva concentració tendeix a disminuir progressivament, sent de 15-23 g/L en calostre i de 8-12 g/L en llet de transició i llet madura (Hosea Blewett *et al.*, 2008).

Els HMO consten d'un nucli de lactosa substituït amb N-acetil glucosamina, galactosa, fucosa i àcid siàlic en diferents posicions i enllaços, i generen un total de més de 200 compostos distints. La llet humana mostra una gran complexitat i variabilitat d'HMO no trobats a la llet d'altres espècies de mamífers (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Bode, 2012).

Estudis *in vitro* han demostrat que els HMO són resistents a la hidròlisi gastrointestinal i arriben intactes a l'intestí prim i al còlon del lactant (Newburg and Walker, 2007).

Els HMO duen a terme un efecte antiinfecciós a través de diferents mecanismes. D'una banda, exerceixen un *efecte prebiòtic*, ja que arriben al còlon del lactant sense modificar-se i són utilitzats com a substrat alimentari per determinats bacteris beneficiosos, com *Bifidobacterium sp.* i *Lactobacillus*, fet que promou el seu creixement en el tracte gastrointestinal del nounat. Aquests bacteris beneficiosos produeixen àcids orgà-

©Universitat de Barcelona

Edusfarm 8 *(2016), 163-192*
ISSN: 1886-6271

nics que retarden el creixement de patògens entèrics, protegint així el lactant de la colonització gastrointestinal per microorganismes nocius (Bode, 2012 i 2015; Andreas *et al*., 2015) (figura 2A).

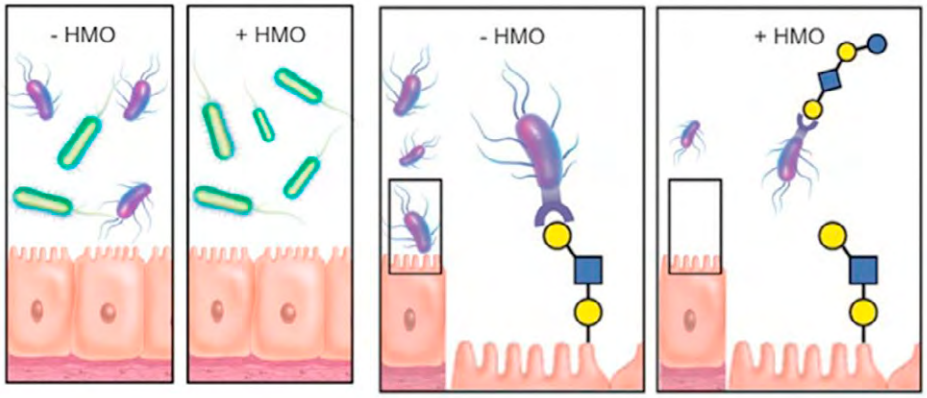

Figura 2. Mecanismes d'acció dels oligosacàrids de llet humana (HMO) responsables de la seva activitat antiinfecciosa. A) efecte prebiòtic, i B) actuació com a «falsos receptors» de microorganismes patògens. Modificada de Bode, 2012.

D'altra banda, molts d'aquests HMO actuen com a *falsos receptors de patògens* i inhibeixen la unió de bacteris, virus o toxines a l'epiteli intestinal. Això és a causa de la semblança de la seva estructura als carbohidrats de la superfície de les cèl·lules epitelials de l'intestí. Així, els HMO podrien interaccionar de forma específica amb determinats microorganismes patògens i inhibir, mitjançant competició directa, la unió del patogen a les glicoproteïnes de les cèl·lules epitelials, evitant així les possibles infeccions (Bode, 2012 i 2015). La semblança estructural entre els HMO i els receptors d'adhesió determinaran l'especificitat d'unió per a un patogen determinat. S'ha descrit que mitjançant aquest mecanisme els HMO poden evitar que l'infant pateixi infeccions de bacteris com *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* i *Salmonella*, entre d'altres (Andreas *et al*., 2015) (figura 2B).

A més de l'activitat antiinfecciosa, s'ha descrit que els HMO poden desenvolupar *activitat immunomoduladora*, ja que són capaços d'influir sobre la resposta cel·lular de l'epiteli intestinal. Concretament, poden inhibir el creixement cel·lular i induir processos de diferenciació i apoptosi (Andreas *et al*., 2015). A més, modulen la producció de citocines per part dels limfòcits Th, fet que comporta una resposta més equilibrada entre les subpoblacions de tipus Th1 i Th2, que es troba descompensada en el nounat (Bode, 2012) (figura 3).

©Universitat de Barcelona

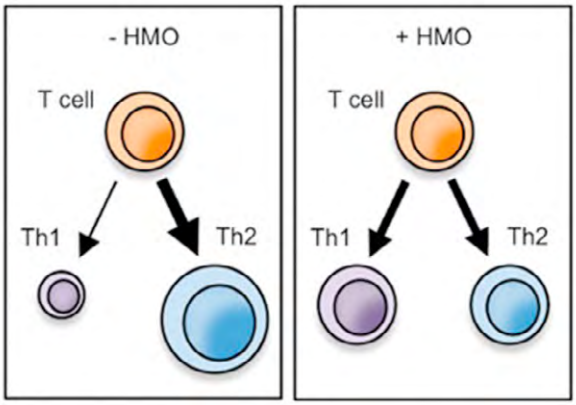

Figura 3. Mecanisme d'acció dels oligosacàrids de la llet humana (HMO) responsable de l'activitat immunomoduladora. Els HMO restableixen l'equilibri entre la resposta de tipus Th1 i Th2. Modificada de Bode, 2012.

4.1.1.4. Lípids i àcids grassos

El 93-97% de la part lipídica de la llet humana es troba en forma de triglicèrids organitzats en glòbuls de greix. L'estructura d'aquests glòbuls consta d'un nucli de triglicèrids delimitat per una capa simple de lípids, alhora envoltat per una bicapa de lípids i proteïnes entre els quals podem trobar colesterol, fosfatidilcolina i esfingomielina. El contingut de lípids és de 3-4 g/L tant en calostre com en llet de transició i madura. A més dels beneficis nutritius i en el desenvolupament dels nadons, també aporta protecció antimicrobiana a l'intestí del lactant. A causa de la lipòlisi a nivell gàstric i intestinal, es generen àcids grassos saturats de cadena mitjana, àcids grassos insaturats de cadena llarga i monoglicèrids, que tenen *propietats antivirals, antiprotozoàries i antibacterianes*. Tot i que el mecanisme d'acció dels àcids grassos i monoglicèrids no està ben definit, es creu que poden actuar alterant la membrana bacteriana o bé modificant el pH intracel·lular (Hosea Blewett *et al.*, 2008).

4.1.1.5. Components que promouen una microbiota intestinal beneficiosa

La llet humana és la principal font de bacteris que colonitza l'intestí del lactant, ja que el còlon dels nadons alimentats amb llet materna conté un nombre menor de bacteris potencialment patògens i més de beneficiosos, en comparació amb els nadons alimentats amb fórmules infantils. A part dels components antiinfecciosos, la llet conté *factors bífidus i components amb activitat prebiòtica* —lactoferrina, HMO i nucleòtids— que promouen l'establiment d'una microbiota intestinal beneficiosa (Hosea Blewett *et al.*, 2008).

4.1.2. Components de la llet humana que promouen el desenvolupament del sistema immunitari

La llet conté el seu propi SI i una gran varietat de factors cel·lulars i solubles que faciliten el desenvolupament i la maduració del SI del nadó.

©Universitat de Barcelona

4.1.2.1. Leucòcits

Són cèl·lules que formen part del SI matern i la seva concentració en llet depèn fonamentalment de l'etapa de lactància, sent màxima en calostre (4×10^9/L) i relativament elevada en llet madura (10^8-10^9/L). Els *macròfags* (55-60%) i *neutròfils* (30-40%) predominen sobre els *limfòcits* (5-10%). S'ha demostrat que els leucòcits procedents de la llet materna que assoleixen l'intestí del lactant es troben activats, presenten les molècules de superfície pràcticament intactes i mantenen la seva viabilitat cel·lular. Tot això permet pensar que els leucòcits de llet materna porten a terme una funció immunitària clau en l'espai temporal comprès entre el naixement i el desenvolupament d'un SI completament funcional en el nen (Ballard i Morrow, 2013; Parigi *et al.*, 2015).

4.1.2.2. Citocines

Són glicoproteïnes multifuncionals implicades en la comunicació intercel·lular i l'activació del SI. Són presents en la fracció aquosa de la llet i la seva concentració varia àmpliament durant la lactància. Algunes de les citocines en llet humana són: IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18, TNF-α, TGF-β i IFN-γ. El seu origen s'atribueix principalment a les cèl·lules de la glàndula mamària, si bé els leucòcits presents a la llet són també capaços de produir-ne. S'ha demostrat que algunes citocines sobreviuen i retenen la seva activitat biològica després del seu pas pel tracte gastrointestinal i, fins i tot, poden assolir la circulació sistèmica (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Lawrence, 2011).

En el nounat, la producció de citocines és molt limitada, de manera que la seva ingesta a través de la llet promou el desenvolupament i maduració del seu SI. Així, s'ha suggerit que el *factor transformador de creixement (TGF)-β* estimula la maduració del SI intestinal del lactant. A més, les citocines TGF-β, *IL-6 i IL-10* contribueixen al desenvolupament i a la diferenciació de les cèl·lules productores d'IgA. Ara bé, la majoria d'estudis que demostren l'activitat d'aquestes citocines s'han realitzat *in vitro*, sense tenir en consideració altres factors presents a la llet que poden potenciar o inhibir la seva activitat (Field, 2005).

4.1.2.3. Hormones i pèptids bioactius

Encara que la seva activitat no està clarament establerta, es pot suposar que la seva ingesta per via oral té un impacte directe en el desenvolupament del SI dels nadons (Field, 2005). Els components més rellevants que pertanyen a aquest grup són hormones, factors de creixement i pèptids de la llet parcialment digerits. Entre d'altres, es troben el cortisol, hormones sexuals, hormones tiroïdals i paratiroïdals, hormones adrenocorticotròpiques, adipocines, EGF (factor de creixement epidèrmic), eritropoetina, insulina, etc. (Hosea Blewett *et al.*, 2008).

4.1.2.4. Nucleòtids

Són components intracel·lulars de baix pes molecular i representen un 2-5% del nitrogen no proteic de la llet humana. La seva concentració és superior en calostre (53-58 g/L)

©Universitat de Barcelona

que en llet madura (33 g/L). Es consideren *semiessencials* per al nounat, ja que aquest requereix la seva aportació exògena a través de la dieta. Això es justifica per la baixa capacitat de síntesi i l'elevada taxa de creixement i proliferació cel·lular que presenta el nadó. Aquest desequilibri es compensa mitjançant l'aportació de nucleòtids a través de la llet materna, que constitueix l'única font externa de nucleòtids durant els primers mesos de vida i presenta una composició diferent de la bovina i de les fórmules infantils (Cilla *et al.*, 2012).

La funció principal dels nucleòtids és el creixement i la diferenciació cel·lular, si bé participen també en moltes altres funcions cel·lulars. Així, els nucleòtids tenen un efecte beneficiós sobre el *SI sistèmic* del lactant, ja que promouen tant la *resposta immunitària innata* com l'*adaptativa*. Concretament, són capaços d'activar els macròfags i les cèl·lules NK, incrementar la producció de citocines i, en conseqüència, conferir resistència enfront d'infeccions. També promouen la proliferació, l'activació i la maduració de limfòcits T i B, així com la producció d'anticossos (Rivero Urgell *et al*., 2005; Hawkes *et al.*, 2006; Cilla *et al.*, 2012).

També exerceixen efectes beneficiosos sobre la microbiota intestinal i la *immunitat mucosal* del lactant. A nivell intestinal, afavoreixen la maduració i la integritat de la mucosa, promouen la maduració limfocítica i augmenten la capacitat de reparació de la mucosa en resposta a una lesió, fet que comporta una reducció en el risc de patir diarrees (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Cilla *et al.*, 2012).

4.1.2.5. Àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga (AGPI-CL)

En adults, els AGPI-CL de les sèries n-6 i n-3 modulen la resposta immunitària dels limfòcits Th1 i Th2. En llet humana, l'*àcid docosahexaenoic (DHA)* i l'*àcid araquidònic (AA)* participen activament en el desenvolupament del SI dels nadons. En aquest sentit, s'ha demostrat que les subpoblacions limfocítiques i les citocines de nens alimentats amb fórmules infantils suplementades amb AA i DHA són similars a les dels nens alimentats amb llet materna; i difereixen de les de nadons alimentats amb fórmules infantils sense suplementar (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Lawrence, 2011).

4.1.3. Components toleròGens de la llet humana

La infància és una etapa en què l'equilibri entre la tolerància i la sensibilització enfront d'un antigen és molt delicat. En aquest sentit, s'ha demostrat que la lactància materna *promou l'adquisició de tolerància oral* enfront d'antígens innocus de la dieta i de la pròpia microbiota intestinal. Aquest fet explica la menor incidència d'al·lèrgies alimentàries en nens alimentats exclusivament amb llet, en comparació amb aquells que no van ser alletats. Aquest efecte tolerogen de la llet materna s'ha associat a determinades citocines i AGPI-CL (Field, 2005; Lawrence, 2011).

4.1.3.1. Citocines: TGF-β i IL-10

La tolerància oral és un procés actiu que sovint implica la regulació de la resposta immunitària mitjançant la secreció de citocines. El **TGF-β** present a la llet humana s'absorbeix

©Universitat de Barcelona

a escala intestinal i es distribueix a nivell sistèmic. La seva funció en el desenvolupament de la tolerància s'ha evidenciat en observar que nivells baixos de TGF-β a la llet materna es correlacionen amb un increment del risc d'aparició de malalties atòpiques en el nounat. La **IL-10** es troba tant a la fase aquosa com a la capa lipídica de la llet humana. A més de la seva activitat tolerògena, exerceix una acció antiinflamatòria (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Lawrence, 2011).

4.1.3.2. AGPI-CL de les sèries n-3 i n-6

La llet humana conté AGPI-CL de les sèries n-3 i n-6 (AA i DHA), la concentració dels quals depèn de la dieta materna abans i durant la lactància (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Lawrence, 2011). La composició en àcids grassos de la membrana fosfolipídica condiciona la funcionalitat de les cèl·lules immunitàries i el desenvolupament de tolerància/sensibilització en els nounats (Korotkova *et al.*, 2004)or a diet deficient (D. S'ha descrit que nivells baixos d'AGPI-CL n-6 enfront de nivells elevats de n-3 es relacionen amb un menor risc de desenvolupar malalties atòpiques. Aquests efectes immunoreguladors s'han atribuït als *AGPI de la sèrie n-3*, i el seu benefici serà més gran com més aviat s'incorporin a la dieta, ja sigui de la mare perquè arribi al fetus o del nadó a través de la llet materna (Korotkova *et al.*, 2004).

4.1.4. Components antiinflamatoris de la llet humana

La inflamació és un mecanisme defensiu beneficiós, ja que protegeix el nadó de la infecció. Ara bé, al mateix temps, quan la resposta inflamatòria és exagerada pot causar danys i lesions tissulars. L'activitat antiinflamatòria inherent a la llet humana assegura una resposta immunitària adequada i efectiva, i evita lesions col·laterals en el nen. Aquesta activitat s'atribueix a diferents components com citocines, lactoferrina, antioxidants, antiproteases i AGPI-CL n-3, entre d'altres (Hosea Blewett *et al.*, 2008; Lawrence, 2011).

4.1.4.1. Citocines i receptors de citocines

- **IL-10:** inhibeix la producció de citocines proinflamatòries i proporciona el balanç necessari per assegurar que la resposta inflamatòria sigui correcta.
- **TGF-β:** inhibeix la producció de citocines proinflamatòries i promou la reparació del teixit intestinal.
- **Antagonistes del receptor d'IL-1:** competeixen amb la IL-1 per unir-se al seu receptor, de manera que limiten la resposta inflamatòria.
- **Receptors solubles de TNF-β i IL-6:** s'uneixen a les citocines proinflamatòries corresponents i n'inhibeixen l'activitat.

4.1.4.2. Lactoferrina

Té activitat antiinflamatòria, ja que inhibeix la producció de citocines proinflamatòries i de mediadors de la inflamació mitjançant la inhibició de l'expressió del factor de trans-

©Universitat de Barcelona

cripció NF-κB. La seva capacitat antiinflamatòria també s'ha relacionat amb l'habilitat per unir-se al ferro, que té potents activitats oxidants.

4.1.5. Probiòtics de la llet humana

Són microorganismes vius, principalment bacteris anaeròbics capaços de prevaler sobre alguns microorganismes patògens del tracte digestiu humà que, administrats en quantitats adequades, confereixen beneficis de salut a l'hoste (Suárez, 2015).

Tradicionalment, la llet humana intramamària s'havia considerat estèril, però actualment diversos estudis han demostrat que és una font contínua de bacteris comensals potencialment probiòtics per a l'intestí del nounat (≈ 10^3-10^4 UFC/mL) (Fernández *et al.*, 2013; Jeurink *et al.*, 2013).

La microbiota de la llet humana inclou bacteris dels gèneres estafilococs, estreptococs, lactococs, enterococs, lactobacils, bifidobacteris, i alguns gramnegatius, entre d'altres. Aquests bacteris ajuden a reduir la incidència i gravetat d'infeccions en el lactant, així com a combatre diarrees i a reduir el risc a desenvolupar malalties com l'obesitat o la diabetis (Jeurink *et al.*, 2013).

S'han proposat diferents mecanismes mitjançant els quals la microbiota de la mare pot arribar a formar part de la del nounat a través de la lactància. Inicialment es va pensar que la microbiota del nounat podia provenir de la flora vaginal de la mare, però aquesta idea es va revocar en comprovar que les soques detectades en cada cas no eren coincidents. També s'ha suggerit que alguns bacteris presents en la llet humana poden provenir de la boca del nadó (*Streptococcus*) o de la pell materna (*Staphylococcus*, *Propionibacterium* i *Corynebacteria*), tot i que de vegades s'ha plantejat la hipòtesi en sentit invers, és a dir, que sigui la microbiota de la llet materna la que influeix en la població microbiana de la boca del nounat (Jeurink *et al.*, 2013) (figura 4).

La hipòtesi més revolucionària ha estat la «migració activa» de la microbiota intestinal de la mare fins a la glàndula mamària, mitjançant la via enteromamària. Es basa en la capacitat de les cèl·lules dendrítiques de penetrar l'epiteli intestinal i captar els bacteris no patògens directament de la llum intestinal, sense destruir la integritat epitelial. A més, poden retenir els bacteris comensals durant uns dies en els ganglis limfàtics mesentèrics o en altres teixits limfoides des dels quals es poden disseminar cap a altres localitzacions mucosals. Durant la lactància, per efecte d'hormones lactogèniques, hi ha un cert tropisme a migrar cap a la glàndula mamària; d'aquesta manera, els bacteris probiòtics són secretats en la llet materna i assoleixen l'intestí del lactant (Fernández *et al.*, 2013; Rodríguez, 2014 (figura 4).

©Universitat de Barcelona

Edusfarm 8 *(2016), 163-192*
ISSN: 1886-6271

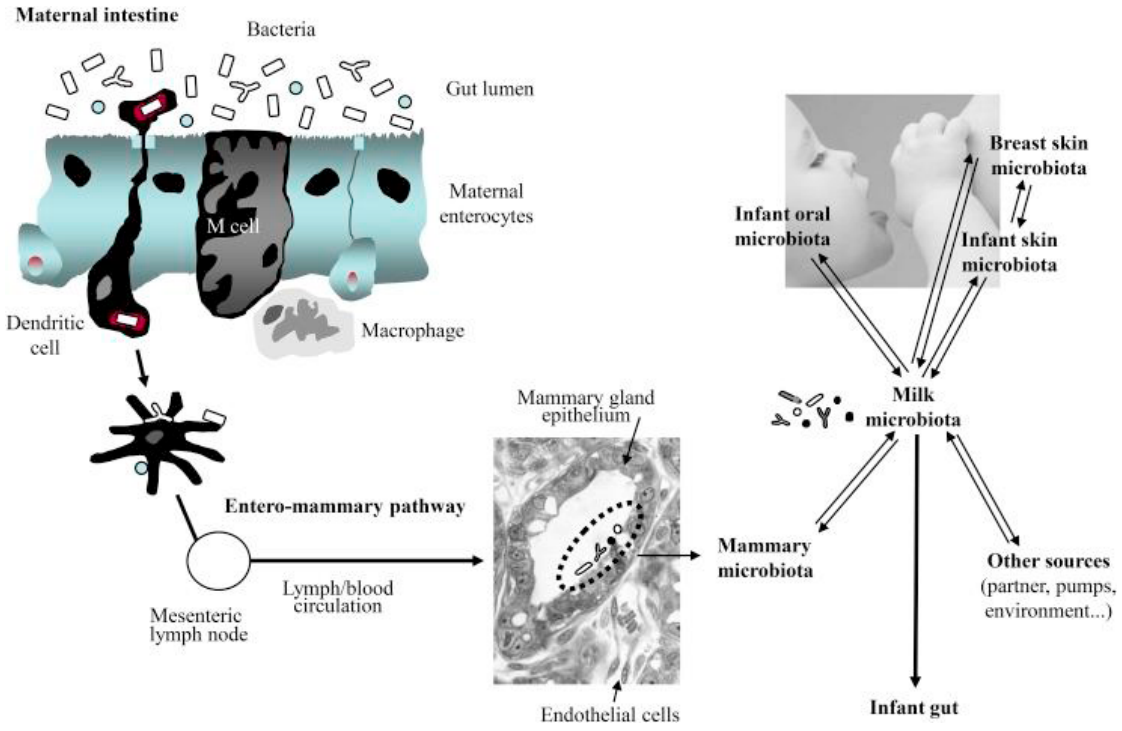

Figura 4. Origen dels bacteris presents en la llet materna. Model proposat que explica com les soques bacterianes de l'intestí matern poden ser transferides a l'intestí del lactant per via enteromamària. Extreta de Rodríguez, 2014.

Els probiòtics de la llet humana exerceixen no només una activitat antiinfecciosa, sinó també immunomoduladora. Respecte a l'*activitat antiinfecciosa*, confereixen protecció enfront d'infeccions víriques i bacterianes. El principal mecanisme antiinfecciós dels probiòtics és la competència amb els patògens per als nutrients i l'adhesió a la paret intestinal. A més, alguns probiòtics de la llet materna augmenten les funcions de barrera intestinal, ja que incrementen la producció de mucines, redueixen la permeabilitat intestinal i promouen la secreció d'IgA-s (Olivares *et al.*, 2006).

En relació amb els *efectes immunomoduladors*, els probiòtics estimulen les respostes de tipus Th1, compensant així el desequilibri Th2 propi dels nounats i reduint, d'aquesta manera, la incidència de trastorns al·lèrgics i de processos inflamatoris (Fernández *et al.*, 2013).

4.2. Lactància artificial: fórmules infantils

La llet materna és l'alimentació ideal per al nounat i cobreix les necessitats del nadó fins als sis mesos d'edat. Ara bé, en els casos *que la lactància materna no és possible o està desaconsellada*, es recomana la lactància artificial, excepte en el cas de nadons prematurs o de baix pes en néixer (Lawrence, 2011).

©Universitat de Barcelona

4.2.1. Fórmules d'inici i de continuació

Aquests preparats infantils han experimentat una evolució constant els darrers anys i s'han aconseguit productes que mimetitzen cada vegada més els beneficis de la lactància materna. La majoria d'avenços han estat conseqüència d'un coneixement més profund dels components de la llet humana i de la disponibilitat de noves tecnologies.

Les fórmules infantils són llets generalment elaborades a partir de llet de vaca o de cabra, modificades per assemblar-se al màxim a la llet humana. Existeixen dos tipus de fórmules: les d'inici (fins als sis mesos d'edat) i les de continuació (dels sis mesos a l'any de vida), adequades en cada cas a l'estat de maduresa dels processos de digestió i absorció intestinal del nadó, així com de l'activitat dels enzims del metabolisme intermediari i de la funció secretora renal (Maldonado *et al*., 2010).

4.2.2. Normativa legislativa sobre fórmules infantils

La normativa classifica les fórmules infantils dins dels productes destinats a una alimentació especial o productes dietètics, ja que requereixen una composició i un procés de fabricació diferent als productes alimentaris de consum corrent. Les fórmules infantils també s'anomenen «preparats per a lactants» o «preparats de continuació».

Aquests preparats es troben regulats tant en l'àmbit nacional com en l'internacional. En l'àmbit europeu han de regir-se per la Directiva 2006/141, del 22 de desembre, que segueix les recomanacions que aporten diferents comitès d'experts en nutrició infantil, com la European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition (ESPGHAN), que estableixen la composició bàsica recomanada per als preparats, tant d'inici com de continuació.

A nivell estatal, s'han publicat normatives específiques com alguns reials decrets que recullen directrius de la Unió Europea. La legislació vigent consta del Reial Decret 165/2014, del 14 de març, pel qual es modifica el Reial Decret 867/2008, del 23 de maig, en què s'aprova la reglamentació tecnicosanitària específica dels preparats per a lactants i de continuació. Aquest decret també indica la composició específica, el rang de concentracions dels seus components i la normativa corresponent a l'elaboració, etiquetatge i publicitat d'aquests preparats (Real Decreto, 2008; Real Decreto, 2014).

A la taula 1 es recull la composició en macronutrients i micronutrients de les fórmules infantils d'inici i de continuació, segons la normativa espanyola vigent.

©Universitat de Barcelona

Taula 1. Composició de les fórmules infantils d'inici i continuació en macronutrients i micronutrients segons la legislació espanyola vigent (Real Decreto, 2008; Real Decreto, 2014).

Macronutrients	Fórmules infantils d'inici	Fórmules infantils de continuació
Energia (kcal/100 mL)	60-70	60-70
Proteïnes (g/100 kcal)	1,8-3	1,8-3,5
Lípids (g/100 kcal)	4,4-6	4-6
Carbohidrats (g/100 kcal)	9-14	9-14
Àcid linoleic (g/100 kcal)	0,3-1,2	0,3-1,2
Micronutrients		
Minerals		
Calci (mg/100 kcal)	50-140	50-140
Fòsfor (mg/100 kcal)	25-90	25-90
Magnesi (mg/100 kcal)	5-15	5-15
Ferro (mg/100 kcal)	0,3-1,3	0,6-2
Zinc (mg/100 kcal)	0,5-1,5	0,5-1,5
Coure (µg/100 kcal)	35-100	35-100
Iode (µg/100 kcal)	10-50	10-50
Sodi (mg/100 kcal)	20-60	20-60
Potassi (mg/100 kcal)	60-160	60-160
Clorur (mg/100 kcal)	50-160	50-160
Vitamines		
Vitamina A (µg-ER/100 kcal)	60-180	60-180
Vitamina D (UI/100 kcal)	40-100	40-120
Vitamina E (mg α-ET/100kcal)	0,5-5	0,5-5
Vitamina K (µg/100 kcal)	4-25	4-25
Tiamina (µg/100 kcal)	60-300	60-300
Riboflavina (µg/100 kcal)	80-400	80-400
Vitamina B_6 (µg/100 kcal)	35-175	35-175
Vitamina B_{12} (µg/100 kcal)	0,1-0,5	0,1-0,5
Niacina (µg/100 kcal)	300-1.500	300-1.500
Àcid fòlic (µg/100 kcal)	10-50	10-50
Àcid pantotènic (µg/100 kcal)	400-2.000	400-2.000
Biotina (µg/100 kcal)	1,5-7,5	1,5-7,5
Vitamina C (mg/100 kcal)	10-30	10-30

4.2.3. Importància de l'addició d'ingredients funcionals a fórmules infantils

L'alimentació del lactant durant els primers mesos de vida és de vital importància per a la seva salut, tant a curt com a llarg termini. Per aquest motiu, la *incorporació de nous ingredients funcionals* a les llets infantils és objecte de nombrosos estudis per aconseguir productes més innovadors i més semblants a la llet humana. Actualment, s'hi han addicionat diferents ingredients funcionals (Dorca, 2008):

©Universitat de Barcelona

- *Oligosacàrids:* resistents a la digestió gastrointestinal, afavoreixen l'efecte bifidogènic de la llet materna i exerceixen una acció antiinfecciosa.
- *Probiòtics:* només aquells aptes per a l'alimentació infantil (no patògens, origen humà, tecnològicament utilitzables, resistents al seu pas pel tracte digestiu del nadó, etc.). Els més àmpliament addicionats a les fórmules infantils són els bifidobacteris, concretament el *Bifidobacterium lactis*.
- *AGPI-CL:* la suplementació amb AA i DHA (1:1) potencia l'activitat immunomoduladora.
- *Nucleòtids:* tenen un efecte beneficiós sobre la resposta immunitària sistèmica i intestinal.
- *Altres components:* lactoferrina, α-lactoalbúmina, β-palmitat, carnitina, taurina, etc.

La incorporació d'aquests ingredients ha estat possible gràcies a la realització d'estudis preclínics i clínics. En un futur proper, gràcies més estudis, serà possible la incorporació de nous components que estan presents en la llet humana i que podran millorar encara més les fórmules infantils.

4.2.4. Addició d'oligosacàrids a fórmules infantils

Una de les propietats més interessants dels oligosacàrids (OS) és el seu efecte prebiòtic, és a dir, la capacitat per estimular selectivament el creixement i/o l'activitat de determinades soques bacterianes de la microbiota intestinal que confereixen beneficis per a la salut de l'hoste (Roberfroid *et al.*, 2010).

Sovint s'utilitza llet de vaca o de cabra per a elaborar fórmules infantils, en què la concentració d'OS és inferior i qualitativament diferent que en llet humana. Així doncs, és lògic preveure la possibilitat de suplementar les fórmules infantils amb aquests ingredients.

Els principals OS que s'addicionen a fórmules infantils són els *galactooligosacàrids (GOS)* i els *fructooligosacàrids (FOS)*, que presenten similituds amb els HMO (Vandenplas *et al*., 2015). L'origen d'aquests OS utilitzats en fórmules infantils pot ser làctic (GOS) o vegetal (FOS i inulina). Els GOS estan formats per cadenes de galactosa amb un residu de glucosa en un dels extrems de la cadena i la seva longitud total és de dos a set monòmers units entre si mitjançant enllaços 1-4 i 1-6. Els FOS estan constituïts per cadenes formades per unitats de fructosa unides mitjançant enllaços 1-2 que contenen un residu de glucosa en un dels extrems i amb una longitud que oscil·la entre dos i set monòmers (Rivero Urgell *et al*., 2005).

4.2.4.1. Normativa legislativa sobre l'addició d'oligosacàrids a fórmules infantils

Segons el Reial Decret 867/2008, del 23 de maig, a les fórmules infantils tant d'inici com de continuació es poden addicionar GOS i FOS en una quantitat i proporció apropiades per al seu ús, és a dir, sense superar el màxim permès de 0,8 g/100 mL en proporció 9:1, respectivament (Real Decreto, 2008). Aquesta normativa no varia amb el Reial Decret 165/2014, del 14 de març, pel qual es modifica el Reial Decret 867/2008, del 23 de maig (Real Decreto, 2014).

©Universitat de Barcelona

Edusfarm 8 *(2016), 163-192*
ISSN: 1886-6271

4.2.4.2. Assaigs clínics que demostren els efectes beneficiosos en el lactant dels oligosacàrids incorporats a fórmules infantils

A la taula 2 es mostra un *recull representatiu d'assaigs clínics* que s'han fet, des de l'any 2006 i fins a l'actualitat, per evidenciar la importància de l'addició d'OS a les fórmules infantils. En estudis clínics previs ja s'havien demostrat no només els seus beneficis per a la salut del lactant (efecte prebiòtic), sinó també la seva seguretat per a ser subministrats a aquesta població pediàtrica (Aggett *et al.*, 2003). Cal assenyalar que s'han seleccionat aquells estudis centrats en nadons sans nascuts a terme, de manera que s'han descartat aquells que estaven realitzats en nadons prematurs i de baix pes corporal.

Els assaigs clínics es presenten de forma esquemàtica, ordenats cronològicament, destacant el contingut, la proporció i el tipus d'OS addicionat i els principals resultats obtinguts (taula 2). A continuació, es destaquen els principals efectes observats en relació amb la composició bacteriana de la microbiota intestinal, el pH fecal, el risc de patir infeccions, així com també la seva influència sobre paràmetres immunològics i el risc a patir dermatitis atòpica i altres trastorns al·lèrgics.

©Universitat de Barcelona

©Universitat de Barcelona

Taula 2. Assaigs clínics amb fórmules infantils suplementades amb oligosacàrids.

Autors, any	Nombre de. lactants	Grups estudiats	Concentració OS	Durada de l'estudi	Resultats
(Van Stuijvenberg *et al.*, 2015)	409	LLM: 124 FE: 156 FO: 129	6,8 g/L scGOS:lcFOS (9:1) + 1,2 g/L pAOS	5 anys	La mescla de prebiòtics emprada no modifica la incidència d'infeccions ni el nombre d'episodis febrils.
(Sierra *et al.*, 2015)	365	FE: 177 FO: 188	4,4-5 g/L GOS	12 mesos	Disminució del pH fecal, increment d'IgA-s, augment del creixement de *Bifidobacteria*. No modifica la incidència d'infeccions ni manifestacions al·lèrgiques.
(Giovannini *et al.*, 2014)	362	LLM: 199 FE: - FO: -	4 g/L GOS	-	Mimetitza l'efecte de la LLM: promou el creixement de *Bifidobacteria* i *Lactobacilli* i inhibeix el creixement de *Clostridium*. Reducció d'episodis de còlics.
(Paineau *et al.*, 2014)	61	FE: 29 FO: 32	4 g/L scFOS	4 mesos	Bona tolerància i increment del contingut de *Bifidobacteria* en femta. No modifica les IgA específiques.
(Arslanoglu *et al.*, 2012)	92 (risc d'atòpia)	FE: 50 FO: 42	8 g/L scGOS:lcFOS	5 anys	Efecte protector enfront de manifestacions al·lèrgiques (dermatitis atòpica, rinoconjuntivitis al·lèrgica) en infants amb risc d'atòpia.
(Xia *et al.*, 2012)	101	LLM FE FO	2-3 g/L FOS	4 setmanes	Població de *Bifidobacteria* i *Lactobacilli* comparable en els tres grups. La inhibició del creixement d'*E. coli* i *C. difficile* no és tan efectiva com la del grup LLM.
(Holscher *et al.*, 2012)	139	LLM: 50 FE: 46 FO: 43	4 g/L GOS:FOS (9:1)	6 setmanes	Bona tolerància. Increment del contingut i proporció de *Bifidobacteria* i reducció del pH fecal.
(Stam *et al.*, 2011)	1.130	FE: 84 FO: 80	8 g/L OS	1 any	No modifica la producció d'anticossos específics.
(Schouten *et al.*, 2011)	74 (risc d'atòpia)	FE: 40 FO: 34	8 g/L scGOS/lcFOS	6 mesos	Reducció de la incidència de dermatitis atòpica, associada a disminució d'Ig lliures.
(Salvini *et al.*, 2011)	20 (mare infectada VHC)	FE: 10 FO: 10	8 g/L scGOS/lcFOS	12 mesos	Major proporció de *Bifidobacteria* i *Lactobacilli.*
(Veereman-Wauters *et al.*, 2011)	110	LLM: 29 FE: 21 FO: 19	8 g/L GOS:FOS (9:1)	28 dies	Creixement de bifidobacteris similar al grup LLM.
(Grüber *et al.*, 2010)	1130 (baix risc d'atòpia)	LLM: 300 FE: 416 FO: 414	6,8 g/L scGOS:lcFOS (9:1) + 1,2 g/L pAOS	1 any	Prevenció de dermatitis atòpica.
(Raes *et al.*, 2010)	187	LLM: 31 FE: 81 FO: 75	6 g/L scGOS:lcFOS (9:1)	26 setmanes	No modifica els paràmetres immunològics estudiats: nombre de limfòcits i concentració d' IgE, IgG, IgA, IgM i citocines.
(Van Hoffen *et al.*, 2009	84 (risc d'al·lèrgia)	FE: 43 FO: 41	8 g/L GOS:FOS (9:1)	6 mesos	Reducció de la incidència de dermatitis atòpica i augment de concentració plasmàtica d'Ig totals. Millora de la resposta enfront de la vacunació.
(Ben *et al.*, 2008)	164	LLM: 24 FE: 45 FO: 95	2,4 g/L GOS	3 mesos	Disminució del pH fecal i estimulació del creixement de *Bifidobacteria* i *Lactobacilli* de forma similar al grup LLM. No modifica la població d'*E. coli.*

(Continua a la pàgina següent.)

©Universitat de Barcelona

(Scholtens *et al.*, 2008)	187	LLM: 31 FE: 81 FO: 75	6 g/L scGOS:lcFOS (9:1)	26 setmanes	Increment de la concentració d'IgA-s fecal, disminució del pH fecal, major proporció de *Bifidobacteria*, menor proporció de *Clostridium* spp (efecte positiu sobre la immunitat mucosal).
(Costalos *et al.*, 2008)	140	FE: 70 FO: 70	4 g/L GOS:lcFOS (9:1)	6 setmanes	Major proporció de *Bifidobacteria* i menor proporció de *Clostridium* i *E. coli* en femta.
(Arslanoglu *et al.*, 2008)	134 (risc d'atòpia)	FE: 68 FO: 66	8 g/L scGOS:lcFOS durant els sis primers mesos de vida.	2 anys	Disminució de la incidència d'al·lèrgies i d'infeccions a llarg termini. Aquest efecte es relaciona amb la capacitat de modulació del SI.
(Arslanoglu*et al.*, 2007)	206 (risc d'atòpia)	FE: 104 FO: 102	8 g/L scGOS:lcFOS	6 mesos	Reducció d'infeccions (especialment del tracte respiratori). Es relaciona amb la modulació immunitària per modificació de la microbiota intestinal (major proporció de *Bifidobacteria*).
(Moro *et al.*, 2006)	206 (risc d'atòpia)	FE: 104 FO: 102	8 g/L scGOS/lcFOS	6 mesos	Menor incidència de dermatitis atòpica. Activitat potencial en la prevenció primària d'al·lèrgies.
(Brunser *et al.*, 2006)	76	LLM: 20 FE: 23 FO: 20	2 g/L FOS	15 setmanes	Menor presència de *Bifidobacteria* i *Lactobacilli* en femtes respecte al grup LLM.
(Bakker-Zierikzee *et al.*, 2006)	120	LLM: 63 FE: 19 FO: 19	6 g/L scGOS/lcFOS	32 setmanes	Tendència a incrementar la producció d'IgA-s intestinal.

FE: Fórmula infantil estàndard; FO: Fórmula infantil suplementada amb OS; lcFOS: FOS de cadena llarga; LLM: Llet materna; pAOS: Oligosacàrids derivats de la pectina; scGOS: GOS de cadena curta; VHC: virus de l'hepatits C.

Composició bacteriana de la microbiota intestinal

La colonització bacteriana primerenca té una funció fonamental en el desenvolupament del SI del nadó. Els primers dos dies de vida es caracteritzen per l'escassa presència de bacteris, entre els quals es troben *Escherichia coli* i *Enterococcus*. Al final de la primera setmana, ja hi ha l'establiment de la microbiota intestinal, que depèn de l'alimentació del nounat (Veereman-Wauters *et al.*, 2011). Una major proporció de bifidobacteris afavoreix la maduració del SI i confereix una major protecció enfront d'infeccions i al·lèrgies (Sierra *et al.*, 2015).

El tipus d'OS utilitzat per a la suplementació determinarà l'*efecte bifidogènic* resultant. Així, els OS de cadena curta es fermenten principalment en el còlon i el cec ascendent, mentre que els de cadena llarga ho fan al llarg de tot el còlon, i, per tant, l'activitat biològica que es desenvoluparà serà diferent. També pot variar la magnitud de l'impacte prebiòtic en funció de l'edat a la qual s'introdueixen les fórmules suplementades, ja que s'ha descrit un efecte bifidogènic més gran com més precoç és l'inici de la seva administració (Veereman-Wauters *et al.*, 2011; Vandenplas *et al*., 2015).

La majoria d'assaigs clínics (taula 2) conclouen que la suplementació amb OS augmenta la població de bacteris beneficiosos com els bifidobacteris i, en alguns casos, disminueix la proporció de bacteris patògens. Aquests efectes no han estat evidenciats en dos dels estudis inclosos en aquest treball (Brunser *et al.*, 2006; Xia *et al.*, 2012).

pH de les femtes

El pH intestinal modula el creixement de la microbiota intestinal, sigui inhibint o afavorint el creixement de diferents bacteris. Concretament, un *descens del pH* (pH més àcid) comporta una disminució de microorganismes patògens. Aquesta baixada és conseqüència de la producció d'àcids grassos de cadena curta per part de bifidobacteris i lactobacils (Sierra *et al.*, 2015).

La disminució del pH en femtes de nadons, associada a la suplementació de fórmules infantils amb OS, s'ha demostrat en alguns estudis (taula 2).

Risc de patir infeccions

Un dels possibles mecanismes d'acció dels OS que confereix la capacitat de protecció enfront d'infeccions també està relacionat amb el creixement de bifidobacteris i lactobacils. Aquests microorganismes alliberen agents antimicrobians d'ampli espectre, entre els quals es troben els àcids grassos de cadena curta i determinats pèptids (Sierra *et al.*, 2015).

Per determinar la *capacitat antiinfecciosa* dels OS en lactants s'han estudiat variables com la incidència d'episodis infecciosos, la freqüència de prescripció d'antibiòtics i el nombre d'episodis febrils o de diarrea. En un assaig clínic realitzat a llarg termini, s'ha demostrat una disminució en la incidència d'infeccions en nens alimentats amb fórmules suplementades amb OS, als sis mesos i als dos anys de vida; aquest efecte s'ha relacionat amb la modulació de la resposta immunitària consegüent a la modificació de la microbiota intestinal (Arslanoglu *et al.*, 2008). Aquests beneficis evidenciats als dos anys de vida no s'han reproduït als cinc anys de vida (Van Stuijvenberg *et al.*, 2015).

©Universitat de Barcelona

Paràmetres immunològics

Un major nombre de bifidobacteris pot promoure la maduració postnatal del SI i exercir un efecte protector en el lactant davant de les infeccions i les al·lèrgies.

La correlació entre bifidobacteris i la *producció d'IgA-s intestinal* ha estat avaluada diverses vegades (taula 2). Alguns autors no només han estudiat la producció d'IgA-s intestinal, sinó també la concentració plasmàtica d'Ig totals, i han obtingut resultats positius (Van Hoffen *et al.*, 2009)and may consequently inhibit the onset of allergy. A specific prebiotic mixture of short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides (GOS/FOS. En canvi, en un dels assaigs clínics no s'han obtingut modificacions significatives en el nombre de limfòcits, ni en els nivells d'IgE, IgG, IgA, IgM ni de citocines en nadons alimentats amb fórmules suplementades amb OS (Raes *et al.*, 2010). Finalment, en un estudi en què s'avaluava la influència dels OS sobre els nivells d'anticossos específics, tampoc s'ha evidenciat cap tipus d'efecte significatiu (Stam *et al.*, 2011).

En conjunt, aquests resultats suggereixen un efecte protector associat al *desenvolupament de la immunitat intestinal*, atès que la producció d'IgA-s és més estable en el temps en nens que consumeixen fórmules suplementades amb OS i arriba a ser comparable a la de lactants alimentats amb llet materna (Sierra *et al.*, 2015).

Al·lèrgies i dermatitis atòpica

La dermatitis atòpica és una malaltia crònica de la pell comuna en la població infantil, amb un augment de la seva prevalença (≈ 10% en països industrialitzats) i amb un pic de màxima incidència el primer any de vida. La prevenció primària en els lactants amb baix risc a patir dermatitis atòpica és crucial, ja que la majoria de nens que la desenvolupen procedeixen de famílies sense antecedents familiars (Grüber *et al.*, 2010).

En un dels estudis s'ha mostrat que els OS són capaços de reduir la concentració d'Ig lliures en infants amb risc d'al·lèrgies, la qual cosa redueix les manifestacions clíniques de dermatitis atòpica en aquests nadons (Schouten *et al.*, 2011). Altres estudis també han posat en evidència que la suplementació de fórmules amb OS redueix el desenvolupament de dermatitis atòpica (taula 2).Només en un dels estudis revisats, tot i detectar diferències a nivell d'IgA-s, no s'han trobat diferències estadísticament significatives en relació amb la incidència d'infeccions i al·lèrgies (Sierra *et al.*, 2015).

4.2.4.3. Oligosacàrids en fórmules infantils comercialitzades a l'Estat espanyol

Amb l'objectiu que els nens alimentats amb fórmules infantils puguin gaudir dels beneficis que aporten els OS, en els darrers anys, diferents laboratoris i cases comercials els han incorporat als seus preparats per a lactants. A les taules 3 i 4 es mostren, de forma gràfica, un recull a mode d'exemple de fórmules infantils d'inici (taula 3) i un altre de continuació (taula 4) que actualment estan comercialitzades a l'Estat espanyol. També s'especifica el/s tipus d'oligosacàrid/s i la seva concentració o contingut. L'estudi s'ha centrat en fórmules d'inici i de continuació, i no en les de creixement, ja que són les que s'utilitzen en les primeres etapes de vida.

©Universitat de Barcelona

Taula 3. Exemples de fórmules infantils d'inici comercialitzades a Espanya i informació relativa a l'addició d'oligosacàrids.

Fórmula infantil i casa comercial	Imatge	Suplementació amb oligosacàrids
Blemil plus 1 forte (Laboratoris Ordesa)		0,8 g/100 mL FOS
Almirón 1 (Nutricia)		0,7:0,08 g/100 mL scGOS:lcFOS
Almirón Advance 1 (Nutricia)		0,7:0,08 g/100 mL scGOS:lcFOS
Nutribén® Natal 1 (Alter farmacia)		0,4 g/ 100 mL GOS
NOVALAC 1 (Laboratorio Ferrer)		---
NOVALAC PREMIUM 1 (Laboratorio Ferrer)		0,2 g/100 mL GOS
Leche Puleva Bebé 1 (Puleva)		---
Miltina 1 (Humana)		0,5 g/100 mL GOS
Pedialac 1 (Hero Baby)		---

©Universitat de Barcelona

Edusfarm 8 (2016), 163-192
ISSN: 1886-6271

Taula 4. Exemples de fórmules infantils de continuació comercialitzades a Espanya i informació relativa a l'addició d'oligosacàrids.

Fórmula infantil i casa comercial	Imatge	Suplementació amb oligosacàrids
Blemil plus 2 forte (Laboratoris Ordesa)		0,4 g/100 mL FOS
Almirón 2 (Nutricia)		0,7:0,08 g/100 mL scGOS:lcFOS
Almirón Advance 2 (Nutricia)		0,7:0,08 g/100 mL scGOS:lcFOS
Nutribén® Continuación 2 (Alter farmacia)		0,38 g/100 mL GOS
NOVALAC 2 (Laboratorio Ferrer)		---
NOVALAC PREMIUM 2 (Laboratorio Ferrer)		0,4 g/100 mL GOS
Leche Puleva Bebé 2 (Puleva)		---
Miltina 2 (Humana)		0,5 g/100 mL GOS
Pedialac 2 (Hero Baby)		0,2 g/100 mL GOS
NAN 2 (Nestlé)		---
Nidina 2 Premium (Nestlé)		---

5. Conclusions

©Universitat de Barcelona

- La *llet humana* és la font d'alimentació idònia per al nounat gràcies als *components bioactius* que conté i que aporten beneficis sobre el desenvolupament del seu sistema immunitari.
- El *sistema immunitari del nounat* és immadur, de manera que el període postnatal és una etapa vulnerable en la qual l'aportació nutricional serà determinant en la seva maduració i condicionarà la capacitat de resposta immunitària a llarg termini.
- Els *components bioactius* presents en la llet humana no només protegeixen el nounat enfront d'infeccions, sinó que també promouen el desenvolupament del sistema immunitari, faciliten l'adquisició de tolerància i controlen la resposta inflamatòria. La *classificació* d'aquests components, en funció de la seva activitat principal, proporciona una visió global i integradora.
- La *modulació de la microbiota* intestinal del nounat és fonamental per al desenvolupament i la funcionalitat del seu sistema immunitari.
- El coneixement de la composició de la llet humana i dels requeriments nutricionals del nadó ha permès el *disseny i la síntesi de fórmules infantils* cada vegada més similars a la llet humana.
- Els *oligosacàrids de la llet humana* actuen com a prebiòtics i com a falsos receptors de patògens. Aquestes característiques els converteixen en un dels components clau per a la protecció del nadó.
- *L'addició d'oligosacàrids a fórmules infantils* està fonamentada en els efectes beneficiosos demostrats en nombrosos assajos clínics, tot i que calen més estudis per assolir una evidència científica que justifiqui la seva incorporació com a ingredient funcional.
- La legislació vigent permet l'addició d'oligosacàrids i n'estableix el contingut màxim, però sense definir una quantitat fixa recomanable. Això fa que no hi hagi uniformitat en la seva addició en les *fórmules infantils d'inici i de continuació* comercialitzades a l'Estat espanyol.

6. Bibliografia

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2015) *Inmunología celular y molecular*. Barcelona, Elsevier, 8a ed.

Adkins, B. (2007) «Heterogeneity in the CD4 T cell compartment and the variability of neonatal immune responsiveness». *Current Immunology Reviews*, 3 (3), pp. 151-159.

Aggett, P., Leach, J.L., Rueda, R., MacLean, W.C. (2003) «Innovation in infant formula development: A reassessment of ribonucleotides in 2002». *Nutrition*, 19 (4), pp. 375-384.

Andreas, N.J., Kampmann, B., Mehring Le-Doare, K. (2015) «Human breast milk: A review on its composition and bioactivity». *Early Human Development*, 91 (11), pp. 629-635.

Arslanoglu, S., Moro, G.E., Boehm, G. (2007) «Early supplementation of prebiotic oligosaccharides protects formula-fed infants against infections during the first 6 months of life». *The Journal of Nutrition*, 137 (11), pp. 2420-1424.

Arslanoglu, S., Moro, G.E., Boehm, G., Wienz, F., Stahl, B., Bertino, E. (2012) «Early neutral prebiotic oligosaccharide supplementation reduces the incidence of some allergic manifestations in the first 5 years of life». *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, 26 (3 supl), pp. 49-59.

Arslanoglu, S., Moro, G.E., Schmitt, J., Tandoi, L., Rizzardi, S., Boehm, G. (2008) «Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic

©Universitat de Barcelona

manifestations and infections during the first two years of life» *The Journal of Nutrition*, 138 (6), pp. 1091-1095.

Bakker-Zierikzee, A.M., Van Tol, E.A. F., Kroes, H., Alles, M.S., Kok, F.J., Bindels, J.G. (2006) «Faecal SIgA secretion in infants fed on pre- or probiotic infant formula». *Pediatric Allergy and Immunology*, 17 (2), pp. 134-140.

Ballard, O., Morrow, A.L. (2013) «Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors». *Pediatric Clinics of North America*, 60 (1), pp. 49-74.

Basha, S., Surendran, N., Pichichero, M. (2014) «Immune responses in neonates». *Expert Review of Clinical Immunology*, 10 (9), pp. 1171-1184.

Ben, X.M., Li, J., Feng, Z.T., Shi, S.Y., Lu, Y.D., Chen, R. *et al.* (2008) «Low level of galacto-oligosaccharide in infant formula stimulates growth of intestinal *Bifidobacteria* and *Lactobacilli*». *World Journal of Gastroenterology*, 14 (42), pp. 6564-6568.

Bode, L. (2012) «Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama». *Glycobiology*, 22 (9), pp. 1147-1162.

——— (2015) «The functional biology of human milk oligosaccharides». *Early Human Development*, 91 (11), pp. 619-622.

Brandtzaeg, P. (2003) «Mucosal immunity: Integration between mother and the breast-fed infant». *Vaccine*, 21 (24), pp. 3382-3388.

Brunser, O., Figueroa, G., Gotteland, M., Haschke-Becher, E., Magliola, C., Rochat, F. *et al.* (2006) «Effects of probiotic or prebiotic supplemented milk formulas on fecal microbiota composition of infants». *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15 (3), pp. 368-376.

Burt, T.D. (2013) «Fetal regulatory T cells and peripheral immune tolerance in utero: implications for development and disease». *American Journal of Reproductive Immunology*, 69 (4), pp. 346-358.

Cilla, A., Lacomba, R., García-Llatas, G., Alegría, A. (2012) «Prebióticos y nucleótidos en alimentación infantil; revisión de la evidencia». *Nutricion Hospitalaria*, 27 (4), pp. 1037-1048.

Costalos, C., Kapiki, A., Apostolou, M., Papathoma, E. (2008) «The effect of a prebiotic supplemented formula on growth and stool microbiology of term infants». *Early Human Development*, 84 (1), pp. 45-49.

Dalle, J.H., Menezes, J., Wagner, É., Blagdon, M., Champagne, J., Champagne, M.A. *et al.* (2005) «Characterization of cord blood natural killer cells: Implications for transplantation and neonatal infections». *Pediatric Research*, 57 (Pt 1), pp. 649-655.

Donovan, S.M. (2016) «The role of lactoferrin in gastrointestinal and immune development and function: A preclinical perspective» *The Journal of Pediatrics*, 173 (supl.), pp. S16-28.

Dorca, J. (2008) «Encuentro con expertos. Ingredientes funcionales en las fórmulas infantiles». *Boletín de la Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León, 48, pp.* 347-352.

Dowling, D.J., Levy, O. (2014) «Ontogeny of early life immunity». *Trends in Immunology*, 35 (7), pp. 299-310.

Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R. *et al.* (2013) «The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease». *Pharmacological Research*, 69 (1), pp. 1-10.

Field, C.J. (2005) «The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants». *The Journal of Nutrition*, 135 (1), pp. 1-4.

Giovannini, M., Verduci, E., Gregori, D., Ballali, S., Soldi, S., Ghisleni, D. *et al.* (2014) «Prebiotic effect of an infant formula supplemented with galacto-oligosaccharides: randomized multicenter trial».,*The Journal of American College of Nutrition*, 33 (5), pp. 385-393.

Grüber, C., Van Stuijvenberg, M., Mosca, F., Moro, G., Chirico, G., Braegger, C.P. *et al.* (2010) «Reduced occurrence of early atopic dermatitis because of immunoactive prebiotics among low-atopy-risk infants». *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126 (4), pp. 791-797.

Guilmot, A., Hermann, E., Braud, V.M., Carlier, Y., Truyens, C. (2011) «Natural killer cell responses to infections in early life». *Journal of Innate Immunity*, 3 (3), pp. 280-288.

©Universitat de Barcelona

Hawkes, J.S., Gibson, R., Roberton, D., Makrides, M. (2006) «Effect of dietary nucleotide supplementation on growth and immune function in term infants: a randomized controlled trial». *European Journal of Clinical Nutrition*, 60 (2), pp. 254-264.

Holscher, H.D., Faust, K.L., Czerkies, L.A., Litov, R., Ziegler, E.E., Lessin, H. *et al*. (2012) «Effects of prebiotic-containing infant formula on gastrointestinal tolerance and fecal microbiota in a randomized controlled trial». *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36 (1 supl.), p. 95S-105S.

Hosea Blewett, H.J., Cicalo, M.C., Holland, C.D., Field, C.J. (2008) «The immunological components of human milk». *Advances in Food and Nutrition Research*, 54 (7), pp. 45-80.

Howard, T.H., Meyer, W.H. (1984) «Chemotactic peptide modulation of actin assembly and locomotion in neutrophils». *Journal of Cell Biology*, 98 (4), pp. 1265-1271.

Jardí Piñana, C., Aranda Pons, N., Bedmar Carretero, C., Arija Val, V. (2015) «Composición nutricional de las leches infantiles. Nivel de cumplimiento en su fabricación y adecuación a las necesidades nutricionales». *Anales de Pediatría*, 83 (6), pp. 417-429.

Jeurink, P.V., Van Bergenhenegouwen, J., Jiménez, E., Knippels, L.M.J., Fernández, L., Garssen, J. *et al*. (2013) «Human milk: A source of more life than we imagine». *Beneficial Microbes*, 4 (1), pp. 17-30.

Korotkova, M., Telemo, E., Hanson, L.Å., Strandvik, B. (2004) «Modulation of neonatal immunological tolerance to ovalbumin by maternal essential fatty acid intake». *Pediatric Allergy and Immunology*, 15 (2), pp. 112-122.

Lanari, M., Sogno Valin, P., Natale, F., Capretti, M.G., Serra, L. (2012) «Human milk, a concrete risk for infection?». *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 25 (S4), pp. 67-69.

Lawrence, R.M. (2011) «Host-Resistance Factors and Immunologic Significance of Human Milk», a Lawrence, R. A., Lawrence, R. M. [ed.] *Breastfeeding: A Guide for the Medical Profession*. Maryland Heights, Elsevier, 7a ed., pp. 153-195.

Lawrence, R.M., Pane, C.A. (2007) «Human breast milk: Current concepts of immunology and infectious diseases». *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, 37 (1), pp. 7-36.

León-Sicairos, N., López-Soto, F., Reyes-López, M., Godinez-Vargas, D., Ordaz-Pichardo, C., Garza, M. de la (2006) «Amoebicidal activity of milk, apo-lactoferrin, sIgA and lysozyme». *Clinical Medicine and Research*, 4 (2), pp. 106-113.

Lönnerdal, B. (2003) «Nutritional and physiologic significance of human milk proteins». *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77 (supl.), pp. 1537S-1543S.

——— (2016) «Bioactive proteins in human milk: Health, nutrition, and implications for infant formulas». *The Journal of Pediatrics*, 173, pp. S4-S9.

Maldonado, J., Gil, M., Lara, F. (2010) «Nutrición del lactante», a Gil, A., Sánchez de Medina, F., Ruiz, M., Maldonado, J., Martínez de Victoria, E., Planas, M., Lara Villoslada, F., Soto González, A. [ed.] *Tratado de nutrición*. Madrid, Médica Panamericana, 2a ed., vol. III, pp. 207-226.

Mantis, N.J., Cheung, M.C., Chintalacharuvu, K.R., Rey, J., Corthésy, B., Neutra, M. R. (2002) «Selective adherence of IgA to murine Peyer's patch M cells: evidence for a novel IgA receptor». *Journal of Immunology*, 169 (4), pp. 1844-1851.

Maródi, L. (2006) «Innate cellular immune responses in newborns». *Clinical Immunology*, 118 (2-3), pp. 137-144.

McCrory, C., Murray, A. (2013) «The effect of breastfeeding on neuro-development in infancy». *Maternal and Child Health Journal*, 17 (9), pp. 1680-1688.

Melvan, J.N., Bagby, G.J., Welsh, D.A., Nelson, S., Zhang, P. (2010) «Neonatal Sepsis and Neutrophil Insufficiencies». *International Reviews of Immunology*, 29 (3), pp. 315-348.

Melville, J.M., Moss, T. J. M. (2013) «The immune consequences of preterm birth». *Frontiers in Neuroscience*, 7 (7), pp. 1-9. Disponible a: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2013.00079/full [accés: 20.3.2016)

Moro, G., Arslanoglu, S., Stahl, B., Jelinek, J., Wahn, U., Boehm, G. (2006) «A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age» *Archives of Disease in Childhood*, 91 (10), pp. 814-819.

©Universitat de Barcelona

Morrow, A.L., Rangel, J.M. (2004) «Human milk protection against infectious diarrhea: Implications for prevention and clinical care». *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 15 (4), pp. 221-228.

Newburg, D.S., Walker, W.A. (2007) «Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk». *Pediatric Research*, 61 (1), pp. 2-8.

Olivares, M., Díaz-Ropero, M.P., Martín, R., Rodríguez, J.M., Xaus, J. (2006) «Antimicrobial potential of four Lactobacillus strains isolated from breast milk». *Journal of Applied Microbiology*, 101 (1), pp. 72-79.

OMS (2001). Disponible a: http://www.who.int/nutrition/topics/infantfeeding_recommendation/es/ [accés: 3.4.2016].

——— (2015). Disponible a: http://www.who.int/features/factfiles/breastfeeding/es/ [accés: 2.4.2016].

Paineau, D., Respondek, F., Menet, V., Sauvage, R., Bornet, F., Wagner, A. (2014) «Effects of short-chain fructooligosaccharides on faecal bifidobacteria and specific immune response in formula-fed term infants: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial». *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 60 (3), pp. 167-175.

Parigi, S.M., Eldh, M., Larssen, P., Gabrielsson, S., Villablanca, E.J. (2015) «Breast milk and solid food shaping intestinal immunity». *Frontiers in Immunology*, 6, p. 415. Disponible a: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2015.00415/full [accés: 4.4.2016).

Raes, M., Scholtens, P.A.M.J., Alliet, P., Hensen, K., Jongen, H., Boehm, G. *et al*. (2010) «Exploration of basal immune parameters in healthy infants receiving an infant milk formula supplemented with prebiotics». *Pediatric Allergy and Immunology*, 21 (2 Pt 2), pp. e377–385.

«Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria especifica de los preparados para lactantes y de los proparados de continuación» (2008) *BOE*, 131, 30 de maig.

«Real Decreto 165/2014, de 14 de marzo, por el que se modifica el Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación» (2014) *BOE*, 64, 15 de març.

Rivero Urgell, M., Santamaría Orleans, A., Rodríguez-Palmero Seuma, M. (2005) «La importancia de los ingredientes funcionales en las leches y cereales infantiles». *Nutricion Hospitalaria*, 20 (2), pp. 135-146.

Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I. *et al*. (2010) «Prebiotic effects: Metabolic and health benefits». *British Journal of Nutrition*, 104 (supl.), pp. S1-63.

Rodríguez, J.M. (2014) «The origin of human milk bacteria: Is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation?»., *Advances in Nutrition*, 5 (6), pp. 779-784.

Salvini, F., Riva, E., Salvatici, E., Banderali, G., Giovannini, M. (2011) «A specific prebiotic mixture added to starting infant formula has long-lasting bifidogenic effects». *The Journal of Nutrition*, 141 (7), pp. 1335-1339.

Scholtens, P.A.M.J., Alliet, P., Raes, M., Alles, M.S., Kroes, H., Boehm, G. *et al*. (2008) «Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides». *The Journal of Nutrition*, 138 (6), pp. 1141-1147.

Schouten, B., Van Esch, B.C.A.M., Kormelink, T.G., Moro, G.E., Arslanoglu, S., Boehm, G. *et al*.(2011) «Non-digestible oligosaccharides reduce immunoglobulin free light-chain concentrations in infants at risk for allergy». *Pediatric Allergy and Immunology*, 22 (5), pp. 537-542.

Sierra, C., Bernal, M.J., Blasco, J., Martínez, R., Dalmau, J., Ortuño, I. *et al*. (2015) «Prebiotic effect during the first year of life in healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: A multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial». *European Journal of Nutrition*, 54 (1), pp. 89-99.

Stam, J., Van Stuijvenberg, M., Garssen, J., Knipping, K., Sauer, P.J.J. (2011) «A mixture of three prebiotics does not affect vaccine specific antibody responses in healthy term infants in the first year of life». *Vaccine*, 29 (44), pp. 7766-7772.

©Universitat de Barcelona

Strunk, T., Currie, A., Richmond, P., Simmer, K., Burgner, D. (2011) «Innate immunity in human newborn infants: prematurity means more than immaturity». *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine,* 24 (1), pp. 25-31.

Suárez, V.M. (2015) «Uso de probióticos y prebióticos en las fórmulas infantiles». *Nutrición Hospitalaria*, 31 (supl. 1), pp. 72-77.

Van De Perre, P. (2003) «Transfer of antibody via mother's milk». *Vaccine*, 21 (24), pp. 3374-3376.

Van Hoffen, E., Ruiter, B., Faber, J., M'Rabet, L., Knol, E.F., Stahl, B. *et al*. (2009) «A specific mixture of short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides induces a beneficial immunoglobulin profile in infants at high risk for allergy». *Allergy*, 64 (3), pp. 484-487.

Van Stuijvenberg, M., Stam, J., Grüber, C., Mosca, F., Arslanoglu, S., Chirico, G. *et al*. (2015) «Similar occurrence of febrile episodes reported in non-atopic children at three to five years of age after prebiotics supplemented infant formula» *PLoS ONE*, 10 (6), pp. 1-12. Disponible a: http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0129927 [accés: 4.4.2016).

Vandenplas, Y., Zakharova, I., Dmitrieva, Y. (2015) «Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics». *British Journal of Nutrition*, 113 (9), pp. 1339-1344.

Veereman-Wauters, G., Staelens, S., Van de Broek, H., Plaskie, K., Wesling, F., Roger, L.C. *et al*. (2011) «Physiological and bifidogenic effects of prebiotic supplements in infant formulae». *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 52 (6), pp. 763-771.

Walker, J.C., Smolders, M.A.J.C., Gemen, E.F.A., Antonius, T.A.J., Leuvenink, J., De Vries, E. (2011) «Development of lymphocyte subpopulations in preterm infants». *Scandinavian Journal of Immunology*, 73 (1), pp. 53-58.

Walker, W.A. (2004) «The dynamic effects of breastfeeding on intestinal development and host defense». *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 554, pp. 155-170.

Willems, F., Vollstedt, S., Suter, M. (2009) «Phenotype and function of neonatal DC». *European Journal of Immunology*, 39 (1), pp. 26-35.

Xia, Q., Williams, T., Hustead, D., Price, P., Morrison, M., Yu, Z. (2012) «Quantitative analysis of intestinal bacterial populations from term infants fed formula supplemented with fructo-oligosaccharides». *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55 (3), pp. 314-320.

©Universitat de Barcelona