

## El papel del microbioma de la leche materna humana en la modulación del sistema inmune del neonato.

*Valencia Castillo S Y<sup>1</sup> Arbeláez Mendoza L<sup>2</sup>, Panesso Cortés D<sup>2</sup>*

### Resumen

La leche materna humana es una fuente óptima de nutrición para los bebés, dado que es un alimento rico en sustancias bioactivas como carbohidratos, lípidos, vitaminas, entre otros, así como una abundancia de microorganismos, oligosacáridos, inmunoglobulinas y demás, que permiten un correcto desarrollo del infante y el establecimiento de una microbiota intestinal sana. Con base en esto, antiguamente se creía que la leche materna humana era un fluido corporal estéril, por lo que la presencia de bacterias en esta generó debate entre la comunidad científica, acerca de cuál era el posible origen y función de esta microbiota en la salud y modulación del sistema inmune del bebé. Por ende, gracias al desarrollo de herramientas bioinformáticas como la metagenómica, se ha logrado el estudio de microorganismos en el mundo, en ambientes naturales, en organismos y lugares inexplorados. Este tipo de herramientas permite, por tanto, obtener muestras de ADN del gen 16s del ARNr de forma rápida y obtener resultados acerca de la composición completa de la muestra en cuanto a microorganismos. Por esta razón, el principal objetivo de esta revisión es recopilar información con el fin de demostrar la importancia de la leche materna humana como alimento que permite la modulación del sistema inmune de los bebés a lo largo de su vida gracias al microbioma presente en esta y otros datos de gran interés.

**Palabras Clave:** leche humana, microbioma, metagenómica, oligosacáridos, sistema inmune.

### Abstract

Human breast milk is an optimal source of nutrition for infants, since it is a food rich in bioactive substances such as carbohydrates, lipids, vitamins, among others, as well as an abundance of microorganisms, oligosaccharides, immunoglobulins and others, that you are right Development of information and healthy intestinal microbiota. Based on this, formerly it was believed that human breast milk was a body fluid, the presence of bacteria in this generation debate about the scientific community, about the possible source and function of this microbiota in the health and modulation of the immune system of the baby. Therefore, thanks to the development of bioinformatic tools such as metagenomics, the study of microorganisms in the world, in natural environments, in unexplored organisms and places has been achieved. This type of tools allows, therefore, to obtain DNA samples of the rRNA 16s gene quickly and obtain results about the complete composition of the sample in terms of microorganisms. For this reason, the main objective of this review is to collect information in order to demonstrate the importance of human breast milk as the food that allows the modulation of the system in babies throughout their lives thanks to the microbiome present in this and other data of great interest

**Key words:** human milk, microbiome, metagenomics, oligosaccharides, immune system.

1 Profesora Investigadora, Universidad Libre. Grupo de Investigación NutriOma, Línea Nutrigenética y Nutrigenómica

2 Estudiantes programa Microbiología Universidad Libre. Grupo de Investigación Microbiotec.

## Introducción

La relación que comparten los humanos con los microorganismos es una de las relaciones más importantes, ya que gracias a esta interacción se logra con éxito la supervivencia. Es bien conocido que los seres humanos conviven en un mundo dominado por los microorganismos (1) (2). Sin embargo, un porcentaje de estos microorganismos no se puede cultivar in vitro debido a la imposibilidad de replicar en laboratorio las condiciones ambientales de sus ecosistemas naturales; de tal manera que no poseer los medios nutricionales adecuados de aislamiento microbiano o no comprender o lograr las condiciones ambientales en las que se deben aislar, ha puesto límites al conocimiento de los microbiomas. Se estima que el 99% de las comunidades microbianas ambientales no es accesible por métodos tradicionales de aislamientos microbiológicos, tales como cultivo en medios artificiales y caracterización bioquímica (3)

Actualmente el desarrollo de herramientas y tecnologías bioinformáticas como la metagenómica, mejoran el conocimiento de los microorganismos en el mundo, en ambientes naturales, en los organismos y lugares inexplorados (4). Esta herramienta molecular permite el diagnóstico rápido de los microorganismos sin la necesidad de realizar cultivos. En otras palabras, la metagenómica se fundamenta en el análisis genómico de una matriz, la cual contiene más de un microorganismo y permite dar a conocer la composición completa de la muestra, permitiendo así detectar diversidad de bacterias, archaeas, hongos y protistas. El método más usado para lograr este fin es la secuenciación del gen 16S rRNA que brinda información de los taxones y especies de un entorno (5).

Con base en lo anterior, el estudio de la leche materna humana (LMH) con herra-

mientas bioinformáticas es de gran utilidad, ya que esta es la fuente recomendada de nutrición para los bebés por su balance óptimo de nutrientes como son: (6) carbohidratos, lípidos, aminoácidos, proteínas, vitaminas y minerales indispensables para el desarrollo del bebe, así como células inmunocompetentes, inmunoglobulinas, ácidos grasos, poliaminas, oligosacáridos, lisozima, lactoferrina y otras glicoproteínas, además de microorganismos y péptidos antimicrobianos (7)(8) los cuales ayudan al desarrollo de la inmunidad innata del neonato. Así mismo, es de resaltar los oligosacáridos, dado que proporcionan nutrientes para el metabolismo microbiano, permitiendo que se dé con éxito una relación simbiótica entre el microorganismo y el huésped (9,10).

En particular en cuanto a los microorganismos presentes en la leche materna, se han reportado especies como *Weisella*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Veillonella*, *Leptotrichia* y *Prevotella* (11) apoyando el argumento de la LMH como fuente óptima de nutrición (12), por ser especies necesarias para la maduración del intestino del neonato. Diferentes estudios sugieren que los microorganismos presentes en la glándula mamaria provienen del intestino mediante monocitos intestinales que se desplazan durante el embarazo y la lactancia (6). Un bebe consume aproximadamente  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  bacterias diariamente, las cuales han sido encontradas en la microbiota intestinal del recién nacido y coinciden con el tiempo de destete en donde poco a poco se va evidenciando disminución de la microbiota en la glándula mamaria, gracias a la apoptosis resultado en la involución mamaria (11).

Por esta razón el principal objetivo de esta revisión es recopilar información con el fin de demostrar la importancia de la leche

materna humana como alimento que permite la modulación del sistema inmune de los bebés a lo largo de su vida gracias al microbioma presente en esta.

### **Metodología**

El presente trabajo es de tipo documental que se basa en una búsqueda descriptiva sobre el microbioma de la leche materna. Esto se logró gracias al rastreo, sistematización, organización y análisis de los datos electrónicos obtenidos sobre el tema especificado, entre 2014 y 2019. Este conjunto de documentos fueron encontrados en las bases de datos ScienceDirect y PUBMED. Como criterios de búsqueda se emplearon las palabras clave “human milk”, “microbiome”, “oligosaccharides”, “metagenomics”, “breast milk”, junto con el conector Booleano “AND”. Estos términos fueron combinados de distintas formas en el buscador con el fin de ampliar los resultados. Las bases de datos arrojaron 1,219 y 558, de los cuales 118 y 317 eran de acceso libre respectivamente. Finalmente se filtró la información, seleccionando aquellos artículos publicados en los últimos 5 años.

### **Desarrollo y Discusión**

La leche materna humana (LMH) es una sustancia muy completa y enriquecida que contiene diferentes componentes muy importantes que ayudan al correcto desarrollo neurológico, motor e inmunológico del bebe, e incluso permite establecer una microbiota intestinal infantil (10) (13). Pero, por otro lado, el hecho de no lactar puede tener algunos efectos nocivos en el bebé haciendo que este sea propenso a padecer ciertas patologías, sin embargo, esto está relacionado directamente con la fisiología de la madre, su alimentación, y otros factores (14) Es claro entonces que la dieta del neonato no solo es importante para prevenir afecciones patógenas después de su nacimiento, sino que además permi-

te prevenir problemas de salud como alergias, inflamaciones, obesidad, diabetes y enfermedades autoinmunes, durante los primeros años de vida (Gimeno-Alcañiz & Collado, 2019)(17).

### **Microbioma de la leche materna humana**

Como se dijo anteriormente, la LMH en el siglo pasado era considerada estéril y sin microorganismos (2)(8). Sin embargo, estudios realizados con técnicas dependientes de cultivos han logrado demostrar la presencia de bacterias comensales y probióticas en la leche, especialmente bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. La presencia de estos microorganismos ha permitido deducir su función como una estrategia evolutiva que permite una adecuada nutrición del neonato. Se ha informado por ende, que un bebé puede consumir en promedio 104 y 106 bacterias comensales en 800 ml de leche materna (25).

A partir de esto, gracias al desarrollo de técnicas independientes de cultivo, como la piro-secuenciación o secuenciación de próxima generación (NGS) se ha logrado caracterizar otros géneros bacterianos. En el calostro, los géneros más comunes encontrados incluyen: *Weisella*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*. El calostro muestra diferentes patrones de diversidad microbiana en comparación con la leche madura. Por su lado, la leche madura en diferentes estudios ha mostrado una gran abundancia de: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bifidobacterium*. A nivel de filos, se encuentra Proteobacteria y Firmicutes como los más abundantes, y Actinobacteria y Bacteroides en bajas cantidades. Sin embargo, se debe tener en cuenta que los porcentajes de estos microorganismos varían de una madre

a otra, ya que se deben tener en cuenta factores que afectan el establecimiento de esta microbiota en la LMH (26) (27).

Por ende, la composición microbiana de la LMH varía entre las madres en la diversidad beta por el momento siguiente al nacimiento hasta los seis meses. En contraste, la diversidad alfa varía entre las madres en función a los estilos de vida de estas, como ejemplo la vida rural o urbana puede afectar, y esto se ha observado en estudios donde demuestran que la diversidad microbiana es mayor en la leche materna de madres rurales en comparación a las madres urbanas. Por tanto, esta diversidad alfa dada por los estilos de vida permite una población microbiana diferente en el tracto gastrointestinal de los bebés (28).

### **Origen del microbioma de la leche materna humana**

En la última década se ha dado un proceso de cambio en cuanto al paradigma de la esterilidad de la LMH. Múltiples estudios han logrado demostrar la presencia de bacterias activas en la LMH durante aproximadamente medio siglo, sin embargo, existía el dogma de que los fluidos humanos que derivan de la sangre son estériles, por lo que se pensaba que el origen de estos microorganismos podía deberse a contaminación por la piel o por bacterias ambientales (24) (29).

Gracias a los estudios metagenómicos realizados, se ha logrado comprobar que existe por tanto una transmisión de bacterias desde la madre hasta su hijo por medio de la leche materna. Pero, no se conoce con exactitud cuáles son los mecanismos que permiten que esta microbiota llegue hasta la glándula mamaria, por lo que esto ha generado un gran debate y como resultado se han obtenido diversas hipótesis que pretenden dar respuesta a esta incógnita (25).

- Primera hipótesis: contaminación o flujo retrógrado

Esta contaminación se pensaba que podía provenir de la microbiota de la piel de la madre lactante, o por la microbiota presente en la cavidad oral del neonato. Estas bacterias en el bebé proceden del intestino de la madre y de la vagina en el momento del parto, por lo que los bebés la transfieren de la boca a la piel del seno materno y una vez allí, estas bacterias se introducen en la glándula mamaria en el momento de la lactancia. Todo este proceso se da como consecuencia de un flujo retrógrado sustancial de leche que tiene lugar en los conductos mamarios en el evento de la succión. Con esta hipótesis se podría entender la presencia de microorganismos en la leche como son: *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp, siendo bacterias características de la piel y de la saliva respectivamente (10) (24). Esta teoría fue estudiada por Ramsay y colegas por medio de imágenes de ultrasonido, donde demostraron la existencia de un flujo retrógrado de la leche desde la boca del neonato hacia los conductos mamarios en el proceso de la lactancia, lo que permite el intercambio de microorganismos (25).

### **Vía entero – mamaria:**

Esta teoría se fundamenta en que algunas bacterias propias del intestino materno tienen la posibilidad de pasar por un proceso de translocación, para así llegar a las glándulas mamarias por medio de una ruta endógena (30). Sin embargo, no se conoce con exactitud cómo tiene lugar este proceso, ya que las bacterias deben atravesar el epitelio intestinal, evadir el sistema inmunológico y arribar a la glándula mamaria. Por ende, se cree que este mecanismo involucra células mononucleares como las células dendríticas (CD) y células CD18+, que son tipos celulares que permiten captar los microorganismos no patógenos del

intestino materno y conducirlos hasta las glándulas mamarias por medio de una vía linfática (10). La translocación de estas bacterias se facilita por ciertos cambios fisiológicos y hormonales que se dan en la etapa tardía del embarazo y gracias además a la permeabilidad del revestimiento epitelial intestinal (25).

### **Factores que afectan la microbiota de la leche materna humana**

Gracias a los diversos estudios realizados en torno a la caracterización del microbioma de la leche materna humana, se ha logrado demostrar la influencia de ciertos factores en la variabilidad de la población bacteriana presenten en la leche (31). Estos factores afectan entre distintas mujeres, y de igual modo en una misma mujer, debido a las diferentes condiciones fisiológicas, hormonales y patológicas que puedan presentar (25). Especialmente la salud de la madre y la ubicación geográfica son los factores más influyentes en la composición del microbioma de la LMH (9).

- Tipo de parto: Este factor, aun presenta controversias en cuanto a si afecta o no a la composición bacteriana de la leche materna humana. Esto se ve reflejado en el estudio de (26), en donde lograron demostrar que ni las cesáreas de emergencia, ni las cesáreas electivas, afectaron la microbiota de la leche materna en comparación a un parto vaginal. Sin embargo, ellos citan otro estudio, en donde el autor concluye que el modo de parto si afecto significativamente el microbioma de la leche, pero se basó solo en gráficas sin estudios estadísticos. Sin embargo, (32) también concluyeron en su estudio que el microbioma se podía ver afectado por el tipo de parto.
- Área geográfica: En el estudio reali-

zado por Kumar y colaboradores, se demostró que la composición de la microbiota de la LMH fue significativamente distinta entre las madres según su ubicación. Las mujeres españolas presentaron niveles más altos de Bacteroides. Por su lado, las mujeres sudafricanas presentaron mayor cantidad de Proteobacterias. Así mismo, las madres de Finlandia presentaron una abundancia relativamente mayor de Firmicutes y niveles bajos de Proteobacterias (15).

- Alimentación: En el estudio realizado por Savage, et al. y Shively, et al. determinaron que la ingesta elevada de verduras por parte de las madres, y asimismo la ingesta baja de carnes procesadas y alimentos fritos se asoció inversamente con Bacteroides spp y Clostridium spp en la LMH (33)(34). De igual modo el consumo de ciertas bacterias en la dieta, durante el embarazo afecta el microbioma de la LMH (24).
- Edad gestacional: En el estudio de Valentine, et al. informaron la presencia de anaerobios estrictos como Bifidobacterium, Bacteroides y Atopobium en mayor abundancia en la leche de bebés a término, en contraste con la abundancia de anaerobios facultativos presentes en la leche materna de bebés prematuros (23). Por otro lado, en otro estudio se habla sobre la presencia también de Bifidobacterium en leche término, en comparación con mayor cantidad de Enterococcus en leche pretérmino (9).
- Uso de antibióticos: Los antibióticos son los medicamentos que causan alteraciones en los microbiomas (30). Estos pueden hacer que disminuya la diversidad bacteriana de la LMH, creando un ambiente propicio para una disbiosis, en donde la can-

tividad de *Clostridium difficile* se ve aumentada, a pesar de que después se logre reestablecer la comunidad bacteriana presente antes al uso de estas moléculas, esto tiene efectos negativos en la salud del neonato (35).

- Etapa de lactancia: En diversos estudios se ha observado la estabilidad de la comunidad bacteriana en la LMH, y como resultados se ha determinado que el calostro, presenta mayores cantidades de bacterias como *Weissella*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Lactococcus*. En contraste, la LMH madura presenta mayor presencia de *Veillonella*, *Prevotella* y *Leptotrichia* (8).

### **Papel de la leche materna humana en la modulación del sistema inmune**

La LMH más allá de los componentes nutricionales, cuenta con otras sustancias como: lisozima, lactoferrina, oligosacáridos, microorganismos, citoquinas, quimioquinas y ciertos factores de crecimiento que permiten el desarrollo del sistema inmune del infante (31)(16) (36). Por ende, la lactancia materna tiene la capacidad de modificar el desarrollo de la microbiota intestinal del infante, ya que esta permite que se module la programación metabólica e inmunológica que está estrechamente relacionada con la salud del bebé. Por lo que la leche materna junto con los microorganismos maternos intestinales y vaginales que el infante ingiere en su paso por el canal de parto ayudan a dar forma a la microbiota intestinal (8)(23).

Esto se da debido a que la LMH, gracias a sus componentes, permite el desarrollo de bacterias como *Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus spp.* Estos microorganismos son los más importantes en el intestino, y a su vez son considerados probióticos,

ya que permiten crear un microambiente ácido por la síntesis de ácidos grasos los cuales cumplen un papel protector y nutritivo a nivel intestinal (10)(17)(13). Estudios recientes han demostrado que el microbioma de la leche materna y los anticuerpos de esta, permiten la transferencia de bacterias no infecciosas al feto, y estas a su vez ceban el sistema inmunitario innato del infante, para que de este modo el neonato esté preparado para recibir los microorganismos patógenos y no patógenos, que finalmente colonizaran su intestino después del nacimiento (23). Por otro lado, sin embargo, los bebés que nacen de forma prematura se ven afectados a la hora de desarrollar una microbiota intestinal sana, ya que pasan por un proceso retrasado de colonización de bacterias comensales sanas y se tornan propensos a albergar bacterias patógenas, lo que tiene como consecuencia que los neonatos prematuros puedan desarrollar enterocolitis necrotizantes u otro tipo de infecciones (23).

Con base en esto, es de suma importancia el estudio de las funciones que cumplen las moléculas bioactivas de la leche materna, al igual que los microorganismos, en cuanto a la modulación del sistema inmune del infante. Gracias a moléculas como el factor de crecimiento transformante  $\beta 2$  (TGF- $\beta 2$ ), presentan la capacidad de modular la expresión de citoquinas en las células epiteliales del intestino lo que da como resultado la reducción de la inflamación intestinal, y por ende previene enfermedades como la enfermedad de Crohn pediátrica (16). Un ejemplo de estudio es el de Gimeno-Alcañiz, et al. donde lograron demostrar que la leche materna aplicada a la línea celular FHs 74 int (modelo celular intestinal inmaduro), logró producir cambios en la expresión de genes en el intestino que podrían ayudar a la modulación del sistema inmune del recién nacido.

Uno de estos genes es el CD69 que presentó un alza en su expresión, permitiendo resultados positivos, ya que este gen codifica para un receptor de membrana de las células T, como resultado permite establecer un sistema inmune innato en el recién nacido, teniendo en cuenta que por defecto, la deficiencia en la expresión de este gen produce efectos negativos como el desarrollo de enfermedades inflamatorias autoinmunes y crónicas.

Por otro lado, la LMH contiene inmunoglobulinas, presentes en grandes concentraciones como es el caso de la IgA, que permite proteger el intestino del infante, mientras este madura (31). De igual forma, los factores de crecimiento presentes en la LMH, ayudan al correcto funcionamiento de la barrera epitelial; esto se observa en los factores de crecimiento epidérmicos que permiten una adecuada proliferación y diferenciación de las células epiteliales intestinales, con el fin de lograr la maduración intestinal. Alcanzar la maduración intestinal de los infantes, por medio de la alimentación, y por ende por medio de la lactancia, resulta de gran relevancia desde el momento del nacimiento tanto para bebés prematuros como para bebés a término, que han experimentado infecciones intestinales u otro tipo de afecciones a nivel del tracto gastrointestinal (19)(35).

El tejido epitelial que se encuentra en todo el tracto gastrointestinal, es aquella barrera física que permite separar la luz intestinal del tejido subyacente y como función permite proteger al organismo contra antígenos patógenos. Después del nacimiento, la filtración de macromoléculas a través de esta barrera ocurre en tan solo pocos días. Ya en la etapa de la infancia, las funciones de esta barrera epitelial se ven afectadas por episodios de infecciones que pueda sufrir el infante, por lo que asegurar una correcta maduración del sistema inmune y

del tejido epitelial es crucial para mantener el correcto funcionamiento de la barrera epitelial, evitar la invasión de patógenos y de igual modo prevenir posibles inflamaciones intestinales. Es por esta razón que la LMH es de gran interés para reducir en gran medida la aparición de disbiosis microbiana y de una disfunción de la barrera epitelial del intestino, que puedan agravar los estados de infección por culpa de respuestas inmunes desequilibradas (19)

### **Microbiota intestinal infantil**

La microbiota intestinal del neonato se comienza a desarrollar en diferentes momentos, como puede ser antes o después del nacimiento y esta colonización puede progresar gradualmente en las etapas siguientes al parto (22). El establecimiento de la microbiota intestinal se puede ver afectada por factores ambientales (37), por lo que la cercanía a estas circunstancias y las alteraciones del microbioma intestinal, están estrechamente relacionados con cambios en el establecimiento del sistema inmune, afectando gravemente la salud del infante (36)(33) (38).

El colon humano desde un primer instante, se coloniza por una diversidad microbiana muy amplia, conformada por bacterias, virus, levaduras y hasta parásitos. Con ayuda de la secuenciación del gen 16s del rRNA se ha descubierto que puede haber más de 1000 especies de microorganismos que colonizan el intestino (39)(32). De igual modo, distintos estudios han logrado demostrar que los infantes alimentados con leche materna, presentan un microbiota intestinal dominada por filos como: Actinobacterias, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria (37); presentando además géneros abundantes de *Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus spp.* (20). En contraste con los bebés alimentados con leche de fórmula que presentan una variedad más elevada de microorganismos

mos dentro de los cuales se encuentran *Escherichia-Shiguelia* y *Clostridium difficile*, *Enterococcus*, *Enterobacter* y *Citrobacter* (19) (38)(40)(41). Por lo tanto, la nutrición desempeña un papel clave, dado que la introducción de fórmula infantil en lugar de la leche materna, afecta en la composición del microbioma neonatal (19).

Así mismo, según el tipo de parto ya sea parto natural o cesárea, afecta el establecimiento del microbioma intestinal infantil, como lo demuestra Dong, et al. en su estudio, donde logran comprobar que los bebés que habían nacido por parto natural presentaban una prevalencia mayor de *Escherichia coli* la cual se cree que puede provenir del recto de la madre, dado que en el momento del parto, algunas madres suelen defecar y *Bacteroides* spp; mientras que los bebés nacidos por cesárea mostraban prevalencia de bacterias como *Staphylococcus* spp (encontrando *S. epidermis*, especie conocida por pertenecer a la microbiota normal de la piel), *Clostridium* spp y *Enterobacter* spp (42).

Sin embargo, es claro que el microbioma intestinal del recién nacido presentará variaciones en cuanto al número y diversidad de microorganismos a medida que envejece. Se cree, que aproximadamente a los tres años, esta microbiota del infante se parecerá más en cuanto a diversidad y complejidad de composición a la microbiota intestinal de un adulto (28) (43)(41)(37).

### **Oligosacáridos dirigidos a los microorganismos**

Los oligosacáridos de la leche humana (HMO, por sus siglas en inglés "Human Milk Oligosaccharides"), representan el tercer grupo prevalente e importante, ya que estos componentes tienen propiedades no solo nutricionales para el infante sino que cumplen funciones únicas que permiten el establecimiento de una micro-

biota intestinal sana (36)(28)(44)(22), por ende se consideran moléculas protectoras para el recién nacido, con funciones prebióticas (27). Estos componentes son carbohidratos complejos presentes en la leche materna en grandes cantidades, aproximadamente 10-15 g/L, los cuales presentan un extremo reductor de lactosa alargado que contiene unidades de N-acetilactosamina fucosiladas y/o sialiladas, lo que da como resultado, hasta más de 200 estructuras distintas de HMO, presentando tamaños, cargas y secuencias diferentes (19)(31). En particular, estas moléculas no son captadas por las enzimas intestinales del neonato, si no que por el contrario, sirven de sustrato para una gran variedad de microorganismos presentes en el intestino infantil (45).

Así mismo, los HMO presentan motivos estructurales comunes a los glicanos del epitelio intestinal infantil, los cuales son receptores de patógenos, por lo que es evidente que además de servir como sustrato para los microorganismos benéficos del intestino, ayudan a la defensa estratégica, evitando la unión de patógenos virales, bacterianos y protozoarios a las células epiteliales, evitando el desarrollo de enfermedades infecciosas en el bebé (40). Incluso los HMO pueden evitar la invasión por VIH, ya que evitan la unión del virus al receptor de entrada DC-SIGN (23) (9).

Con relación al microbioma intestinal infantil, se dijo que *Bifidobacterium* es uno de los géneros que coloniza el intestino del neonato, que cumple funciones probióticas (14). Con base en esto, este género es el blanco de muchos HMO como la inulina, fructo y galactooligosacáridos, por su habilidad de prevenir la colonización por parte de patógenos, además que permite regular la respuesta inmune del hospedero (45)(46)(47). Como ejemplo, se ha demostrado que HMO  $\alpha$ 1,2 fucosiladas, es-

timulan el crecimiento de *Bifidobacterium longum*, *B. bifidum* y *B. breve* (27). Sin embargo, Bai, et al. mostró en su estudio que la abundancia de la mayoría de grupos de HMO presentes en la leche materna disminuyó gradualmente a medida que transcurría la lactancia, y además no presentó cambios significativos en etapas posteriores. No obstante, los HMO como H3N1 y H31F1, si presentaron un crecimiento después de 42 días de lactancia.

La presencia de este tipo de moléculas en la LMH han permitido confirmar por medio de estudios, que la microbiota intestinal de los lactantes amamantados con LMH presenta mayor cantidad de bifidobacterias, en contraste con la baja cantidad presente de estas bacterias en lactantes alimentados con leche de fórmula, los cuales a pesar de consumir oligosacáridos no consumen los HMO (36). En efecto estos prebióticos permiten la reducción del pH, viéndose reflejado en mayor suavidad de las heces, aumentando la frecuencia de evacuación y aumentando el conteo de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en muestras fecales (19)(28)(48)(44).

### **Metagenómica**

Como se ha nombrado anteriormente, los seres humanos hemos compartido la vida con poblaciones microbianas, las cuales han permitido que se siga dando la evolución de la especie humana. Se calcula que aproximadamente la Tierra alberga alrededor de 1030 células microbianas, siendo entre 106 y 108 especies procariotas separadas. Sin embargo, hasta hace algunos años resultaba difícil el estudio de estas poblaciones microbianas a partir de muestras ambientales, por medio de métodos de laboratorio, dada la imposibilidad de replicar sus condiciones ambientales: niveles de oxígeno, condiciones osmóticas, nutrientes necesarios para su desarrollo, condiciones de pH, temperatura,

entre otros (49). Con base en esto, solo el 0,2% de las especies procarióticas se han logrado aislar e identificar, lo que dificulta en gran medida la comprensión de cuál es el papel que cumplen estas bacterias dentro de nuestro organismo, en la salud y cuál es su relación en cuanto al desarrollo de enfermedades humanas (50).

Por ende, con el fin de superar las distintas limitaciones y dificultades asociadas a las pruebas de laboratorio, como los medios de cultivo para el aislamiento de microorganismos, se han desarrollado distintos métodos moleculares que permiten el estudio del ADN. Esta tipo de tecnologías se conocen con el nombre de Secuenciación de Próxima Generación o NGS (por sus siglas en inglés “Next Generation Sequencing”); y presentan dos enfoques: el primero se conoce como metagenómica dirigida al gen 16S del rRNA, la cual proporciona gran información acerca de los taxones y especies que forman parte de un entorno en particular; la segunda se conoce como metagenómica de escopeta, la cual permite amplificar todas las secuencias en una muestra dada, en donde no hay hipótesis acerca de cuál puede ser su contenido. Específicamente los estudios metagenómicos son una gran herramienta bioinformática, que permite sustituir el aislamiento de los microorganismos por medio de técnicas dependientes de cultivos, por una extracción directa de ADN genómico de una muestra ambiental o de una matriz de interés. Por último, seguido a esto se realiza la construcción de bibliotecas de ADN por medio de vectores de clonación adecuados, permitiendo construir grandes bases de datos con información acerca de distintas especies microbianas presentes (49)(5).

Con respecto a esto, la metagenómica es una herramienta óptima para el estudio de poblaciones microbianas (44), no obstante

se debe realizar una correcta interpretación de resultados, pues estos pueden variar dependiendo del tipo de muestra analizada. A pesar de esto, el uso de esta herramienta ha permitido identificar todas las poblaciones de ADN presentes de un organismo dado, especialmente cuando se usa en microbiotas humanas complejas, como es el caso de la leche materna humana. En donde gracias a estas técnicas independientes de cultivo se ha logrado aislar en esta matriz hasta 200 especies de bacterias, dentro de las cuales, solo de 2 a 18 especies se pueden cultivar en laboratorio, por tanto, es claro que con esta nueva tecnología se ha logrado una mejor evaluación, y a su vez más completa comprensión, de la diversidad bacteriana en la leche materna humana (5)(50).

### **Conclusiones**

La leche materna humana es un alimento con grandes beneficios para el recién nacido, su importancia radica en la capacidad de ayudar en la maduración del sistema inmune, donde por medio de la ingesta de leche se transmiten un sinnúmero de compuestos como proteínas, lípidos y carbohidratos, además de algunos microorganismos que son clave para un buen desarrollo neurológico y motor del bebé. En contraste, los bebés que no son alimentados con LMH por distintos factores, como aspectos sociales, trabajo, u otros, hace que estos sean muy propensos a tener problemas de salud, desarrollando enfermedades como alergias, obesidad, diabetes y enfermedades autoinmunes, las cuales son las más comunes durante los primeros años de vida del bebé, y es por eso que se recomienda que la LMH sea administrada al infante de forma exclusiva mínimo durante sus primeros 6 meses de vida, según lo recomendado por la OMS para así, gracias a su composición, permitir un correcto desarrollo del infante.

Por otro lado, como se nombró en esta revisión, antes se creía que la LMH era estéril pero gracias a toda la literatura que se encuentra en la actualidad en las diferentes bases de datos y que en la presente revisión logramos recopilar, se demostró que esta teoría es falsa y que el número de microorganismos identificados hasta ahora en la leche sigue creciendo cada vez más. Sin embargo, es importante seguir estudiando más sobre esta matriz, dado que aún hay aspectos que no se han logrado verificar de forma adecuada, o se siguen presentando controversias. Es por esta razón, que las herramientas bioinformáticas, son esenciales para seguir estudiando no solo la metagenómica de la LMH, sino además permite el estudio de aspectos como la proteómica, metabólica, y demás disciplinas que permiten un mejor entendimiento de esta sustancia que aporta tantos beneficios a los bebés. Es evidente que gracias a estas herramientas, se ha podido observar que existen una relación directa entre la leche materna y la microbiota intestinal, mostrando alteraciones benéficas en la composición de esta, favoreciendo el crecimiento de *Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus spp.*, los cuales se caracterizan por ser probióticos universales. Todo esto ha sido posible gracias a la metagenómica la cual permite tener resultados de la composición completa de los microorganismos de una forma rápida y sencilla, evitando así el uso de procedimientos tradicionales dependientes de cultivos, que hacen que la investigación sea más complicada.

En definitiva, la LMH es un matriz que necesita seguir siendo estudiada, ya que todavía en muchos países no se hacen estos estudios, como es el caso de Latinoamérica, donde se observa un gran déficit en información al respecto, y solo algunos países de Europa, China y Estados Unidos son los más pioneros en investigar la

metagenómica de la leche materna y su implicación en el desarrollo de la microbiota intestinal infantil, así como su relación con la modulación del sistema inmune del recién nacido. Por ende, la investigación es la herramienta para el conocimiento.

### Referencias bibliográficas:

- Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. Human milk glyco-biome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2011;108(Supplement\_1):4653–8. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1000083107>
- Ferretti P, Pasolli E, Tett A, Asnicar F, Gorfer V, Fedi S, et al. Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome. *Cell Host Microbe*. 2018;24(1):133-145. e5.
- Cadena-Zamudio JD, Martínez-Peña MD, Guzmán-Rodríguez LF, Arteaga-Garibay RI. Aplicación de secuenciación masiva para el estudio y exploración de diversidad microbiana y su aprovechamiento biotecnológico. *Agro Product*. 2016;9(2):70–83.
- Escalante AE, Barbolla LJ, Ramírez-Barahona S, Eguiarte LE. The study of biodiversity in the era of massive sequencing. *Rev Mex Biodivers*. 2014;85(4):1249–64.
- Amrane S, Lagier J. Metagenomic and clinical microbiology. *Hum Microbiome J* [Internet]. 2018;9(January):1–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.humic.2018.06.001>
- Cesare Marincola F, Dessì A, Corbu S, Reali A, Fanos V. Clinical impact of human breast milk metabolomics. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2015;451(Pt A):103–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2015.02.021>
- Jeurink P V., van Bergenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels LMJ, Fernández L, Garssen J, et al. Human milk: A source of more life than we imagine. *Benef Microbes*. 2013;4(1):17–30.
- García-Mantrana I, Gómez-Gallego C, Cabrera-Rubio R, Collado MC. Maternal Factors Related to Variability in the Human Milk Microbiome [Internet]. *Prebiotics and Probiotics in Human Milk: Origins and Functions of Milk-Borne Oligosaccharides and Bacteria*. Elsevier Inc.; 2016. 329-348 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802725-7.00012-9>
- Cacho NT, Lawrence RM. Innate immunity and Breast Milk. *Innate Immun Breast Milk Front Immunol* [Internet]. 2017;8(May):584. Available from: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)
- Toscano M, Grandi R De, Grossi E, Drago L. Role of the human breast milk-associated microbiota on the newborns' immune system: A mini review. *Front Microbiol*. 2017;8(OCT):1–5.
- Issa AT, Tahergorabi R. Milk Bacteria and Gastrointestinal Tract: Microbial Composition of Milk. *Diet Interv Gastrointest Dis* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2019 Mar 20];265–75. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128144688000223>
- Eshaghi M, Bibalan MH, Rohani M, Pourshafie MR, Douraghi M, Talebi M, et al. Bifidobacterium obtained from mother's milk and their infant stool; A comparative genotyping and antibacterial analysis. *Microb Pathog* [Internet]. 2017;111(August):94–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.014>

13. Chiu YH, Tsai JJ, Lin SL, Chotiros-vakin C, Lin MY. Characterization of bifidobacteria with immunomodulatory properties isolated from human breast milk. *J Funct Foods* [Internet]. 2014;7(1):700–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.12.015>
14. Riaz Rajoka MS, Mehwish HM, Siddiq M, Haobin Z, Zhu J, Yan L, et al. Identification, characterization, and probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from human milk. *LWT - Food Sci Technol*. 2017;84:271–80.
15. Kumar H, du Toit E, Kulkarni A, Aakko J, Linderborg KM, Zhang Y, et al. Distinct patterns in human milk microbiota and fatty acid profiles across specific geographic locations. *Front Microbiol*. 2016;7(OCT).
16. Gimeno-Alcañiz J V., Collado MC. Impact of human milk on the transcriptomic response of fetal intestinal epithelial cells reveals expression changes of immune-related genes. *Food Funct* [Internet]. 2019 Jan 22 [cited 2019 Mar 11];10(1):140–50. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C8FO01107A>
17. Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol Int* [Internet]. 2017;66(4):515–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.alit.2017.07.010>
18. Blesa M, Sullivan G, Anblagan D, Telford EJ, Quigley AJ, Sparrow SA, et al. Early breast milk exposure modifies brain connectivity in preterm infants. *Neuroimage* [Internet]. 2019;184(November 2017):431–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.09.045>
19. Perdijk O, van Baarlen P, Fernandez-Gutierrez MM, van den Brink E, Schuren FHJ, Brugman S, et al. Sialyllactose and Galactooligosaccharides Promote Epithelial Barrier Functioning and Distinctly Modulate Microbiota Composition and Short Chain Fatty Acid Production In Vitro. *Front Immunol* [Internet]. 2019 Feb 12 [cited 2019 Mar 11];10:94. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.00094/full>
20. Civardi E, Garofoli F, Mazzucchelli I, Angelini M, Manzoni P, Stornati M. Enteral nutrition and infections: The role of human milk. *Early Hum Dev* [Internet]. 2014;90(SUPPL.1):S57–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-3782\(14\)70019-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-3782(14)70019-2)
21. Bashiardes S, Thaiss CA, Elinav E. It's in the milk: Feeding the microbiome to promote infant growth. *Cell Metab* [Internet]. 2016;23(3):393–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2016.02.015>
22. Donovan SM, Wang M, Monaco MH, Martin CR, Davidson LA, Ivanov I, et al. Noninvasive molecular fingerprinting of host-microbiome interactions in neonates. *FEBS Lett* [Internet]. 2014;588(22):4112–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2014.07.008>
23. Valentine G, Chu DM, Stewart CJ, Aagaard KM. Relationships Between Perinatal Interventions, Maternal-Infant Microbiomes, and Neonatal Outcomes. *Clin Perinatol*. 2018;45(2):339–55.
24. Mcguire MK, Mcguire MA. Got bacteria ? The astounding , yet not-so-surprising , microbiome of human milk. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2017;44:63–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.013>

25. Ojo-Okunola A, Nicol M, du Toit E. Human Breast Milk Bacteriome in Health and Disease. *Nutrients* [Internet]. 2018 Nov 3 [cited 2019 Mar 11];10(11):1643. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/11/1643>
26. Urbaniak C, Angelini M, Gloor GB, Reid G. Human milk microbiota profiles in relation to birthing method, gestation and infant gender. *Microbiome* [Internet]. 2016;4:1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40168-015-0145-y>
27. Bai Y, Tao J, Zhou J, Fan Q, Liu M, Hu Y, et al. Fucosylated Human Milk Oligosaccharides and N-Glycans in the Milk of Chinese Mothers Regulate the Gut Microbiome of Their Breast-Fed Infants during Different Lactation Stages Downloaded from. 2018 [cited 2019 Mar 11]; Available from: <https://doi.org/10.1128/mSystems.00206-18>. <http://msystems.asm.org/>
28. Chong C, Bloomfield F, O'Sullivan J, Chong CYL, Bloomfield FH, O'Sullivan JM. Factors Affecting Gastrointestinal Microbiome Development in Neonates. *Nutrients* [Internet]. 2018 Feb 28 [cited 2019 Mar 11];10(3):274. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/3/274>
29. Biagi E, Aceti A, Quercia S, Beghetti I, Rampelli S, Turrone S, et al. Microbial Community Dynamics in Mother's Milk and Infant's Mouth and Gut in Moderately Preterm Infants. *Front Microbiol* [Internet]. 2018;9(October):1–10. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02512/full>
30. Blaser MJ, Dominguez-Bello MG. The Human Microbiome before Birth. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2016;20(5):558–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2016.10.014>
31. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev* [Internet]. 2015;91(11):629–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
32. Wampach L, Heintz-Buschart A, Fritz J V., Ramiro-Garcia J, Habier J, Herold M, et al. Birth mode is associated with earliest strain-conferred gut microbiome functions and immunostimulatory potential. *Nat Commun* [Internet]. 2018 Dec 30 [cited 2019 Mar 11];9(1):5091. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41467-018-07631-x>
33. Savage JH, Lee-sarwar KA, Sordillo JE, Lange NE, Zhou Y, Connor GTO, et al. Diet during Pregnancy and Infancy and the Infant Intestinal Microbiome. *J Pediatr* [Internet]. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.07.066>
34. Shively CA, Register TC, Appt SE, Clarkson TB, Uberseder B, Clear KYJ, et al. Consumption of Mediterranean versus Western Diet Leads to Distinct Mammary Gland Microbiome Populations. *Cell Rep* [Internet]. 2018 Oct 2 [cited 2019 May 7];25(1):47–56.e3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30282037>
35. Dong TS, Gupta A. Influence of Early Life, Diet, and the Environment on the Microbiome. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2019;17(2):231–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.08.067>
36. Borewicz K, Suarez-Diez M, Hechler C, Beijers R, de Weerth C, Arts I, et al. The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life. *Sci Rep* [Internet]. 2019 Dec 21 [cited

- 2019 Mar 11];9(1):2434. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-38268-x>
37. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):690–703.
  38. Pärnänen K, Karkman A, Hultman J, Lyra C, Bengtsson-Palme J, Larsson DGJ, et al. Maternal gut and breast milk microbiota affect infant gut antibiotic resistome and mobile genetic elements. *Nat Commun* [Internet]. 2018;9(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-06393-w>
  39. Walker AW, Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Phylogeny, culturing, and metagenomics of the human gut microbiota. *Trends Microbiol* [Internet]. 2014;22(5):267–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2014.03.001>
  40. Murphy K, Curley D, O’Callaghan TF, O’Shea C-A, Dempsey EM, O’Toole PW, et al. The Composition of Human Milk and Infant Faecal Microbiota Over the First Three Months of Life: A Pilot Study. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 17 [cited 2019 Mar 11];7(1):40597. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep40597>
  41. Ihekweazu FD, Versalovic J. Development of the Pediatric Gut Microbiome: Impact on Health and Disease. *Am J Med Sci*. 2018;356(5):413–23.
  42. Dong L, Jialin Y, Luquan L, Qing A, Jinxing F, Chao S, et al. Bacterial Community Structure Associated With Elective Cesarean Section Versus Vaginal Delivery in Chinese Newborns. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2015 Feb [cited 2019 Mar 11];60(2):240–6. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00005176-201502000-00021>
  43. Fitzstevens JL, Smith KC, Hagadorn JI, Caimano MJ, Matson AP, Brownell EA. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk. *Nutr Rev*. 2017;32:354–64.
  44. Gosalbes MJ, Compte J, Moriano-Gutierrez S, Vallès Y, Jiménez-Hernández N, Pons X, et al. Metabolic adaptation in the human gut microbiota during pregnancy and the first year of life. *EBioMedicine* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2019 Apr 29];39:497–509. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30415891>
  45. Thomson P, Medina DA, Garrido D, Thomson P, Medina DA, Garrido D. Human milk oligosaccharides and infant gut Bifidobacteria: Molecular Strategies for their utilization. *Food Microbiol*. 2017;
  46. Kovatcheva-Datchary P, Shoaie S, Lee S, Wahlström A, Nookaew I, Hallen A, et al. Simplified Intestinal Microbiota to Study Microbe-Diet-Host Interactions in a Mouse Model. *Cell Rep* [Internet]. 2019 Mar 26 [cited 2019 Apr 29];26(13):3772–3783.e6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30917328>
  47. Wang B, Yao M, Lv L, Ling Z, Li L. The Human Microbiota in Health and Disease. *Engineering* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2019 Apr 29];3(1):71–82. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095809917301492>
  48. Danneskiold-Samsøe NB, Dias de Freitas Queiroz Barros H, Santos R, Bicas JL, Cazarin CBB, Madsen L, et al. Interplay between food and gut microbiota in health and disease. *Food Res Int* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2019 Apr 29];115:23–31. Available from: <https://www.scienc>

- cedirect.com/science/article/pii/S0963996918305829
49. Ngara TR, Zhang H. Recent Advances in Function-based Metagenomic Screening. *Genomics, Proteomics Bioinforma* [Internet]. 2019;(xxxx). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.01.002>
  50. Chappell T, Geva S, Hogan JM, Huygens F, Rathnayake IU, Rudd S, et al. Rapid analysis of metagenomic data using signature-based clustering. *BMC Bioinformatics* [Internet]. 2018 Dec 21 [cited 2019 Mar 11];19(S20):509. Available from: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12859-018-2540-4>