

REVISIÓN

Actualización en fórmulas infantiles basadas en leche de vaca

J.C. Salazar Quero, B. Espín Jaime, J. Valverde Fernández, A. Cárdeno Martín, A. Rodríguez Martínez
Unidad de Gestión Clínica de Pediatría. Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla

Resumen

La leche humana es el alimento recomendado para los lactantes en los primeros 6 meses de vida de manera exclusiva y hasta los 2 años, junto con la alimentación complementaria. En los casos en que ésta no sea posible, las fórmulas infantiles ofrecen una alternativa para la alimentación de los lactantes. Dichas fórmulas toman como modelo la leche materna, por lo que han ido incorporando cambios en su composición, como una disminución del contenido proteico o la adición de componentes bioactivos, como oligosacáridos o membranas de glóbulos lipídicos de la leche, que intentan disminuir las diferencias entre estas fórmulas y la leche humana.

©2018 Ediciones Mayo, S.A. Todos los derechos reservados.

Palabras clave

Fórmula infantil, oligosacáridos de leche humana, membrana de los glóbulos de grasa de la leche, proteína, aceite de palma

Abstract

Title: Update on infant formulas based on cow's milk

Human milk is the recommended food for infants, exclusively in the first six months of life and supplemented with other foods up to 2 years old. In cases where this is not possible, infant formulas offer an alternative for feeding infants. These formulas take human mother's milk as a model, and have therefore undergone changes in their composition, including a reduction in protein content and the addition of bioactive components such as oligosaccharides or milk fat globule membrane, to try to reduce the differences between these formulas and human milk.

©2018 Ediciones Mayo, S.A. All rights reserved.

Keywords

Infant formula, human milk oligosaccharides, milk fat globule membrane, protein, palm oil

Introducción

La leche materna es la mejor fuente de alimento para un lactante. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses, y la Academia Americana de Pediatría al menos durante 12 meses¹.

La leche humana es un fluido complejo con una composición general de un 87% de agua, un 3,8% de grasas, un 1% de proteínas y un 7% de lactosa. La grasa y la lactosa proporcionan, respectivamente, el 50 y el 40% de la energía de la leche, que se ha estimado que tiene una concentración media de 670 kcal/L, aunque hay estudios que la cifran en 550 kcal/L^{2,3}. Sin embargo, la composición de la leche varía con el tiempo, adaptándose a las necesidades del niño, y está condicionada por la salud materna, su dieta y la exposición ambiental. Durante la fase inicial de lactancia, la leche contiene 1,4-1,6 g/100 mL de proteínas, cuyos valores descienden a 0,8-1 g/100 mL a los 3-4 meses, y a 0,7-0,8 g/mL a partir de los 6 meses (figura 1). El contenido graso

también varía con la dieta materna y está relacionado con la ganancia de peso durante el embarazo. Además, hay que tener presente que muchos de los componentes de la leche (oligosacáridos, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, etc.) tienen propiedades bioactivas y que también existen en la leche otros componentes, como bacterias y células inmunes (macrófagos, *stem cells*, etc.) con actividad en el lactante^{2,4}.

Las fórmulas infantiles a base de proteínas de leche de vaca intentan acercarse a esta composición para ofrecer la mejor opción posible de alimentación en los casos en que la lactancia materna no sea posible. En esta revisión se abordan algunos de los cambios más recientes en su composición.

Cambios en el contenido proteico

Como se ha comentado anteriormente, la concentración de proteínas en la leche materna va disminuyendo con el paso del

Fecha de recepción: 2/12/17. Fecha de aceptación: 5/02/18.

Correspondencia: J.C. Salazar Quero. Unidad de Gestión Clínica de Pediatría. Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas. Hospital Virgen del Rocío Av. Manuel Siurot, s/n. 41013 Sevilla. Correo electrónico: josesolrac@hotmail.com

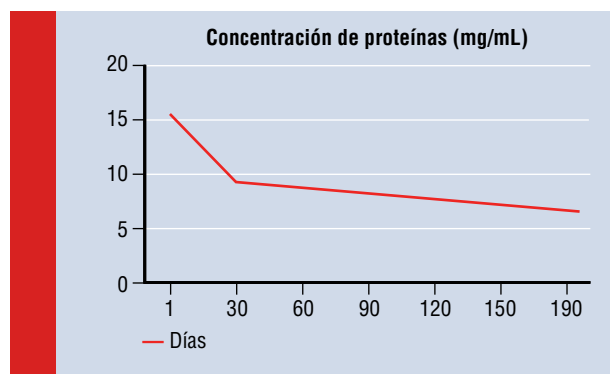


Figura 1. Variación del contenido proteico de la leche humana. (Modificada de Lönnerdal y Hernell²)

tiempo, reflejo del descenso en las necesidades proteicas del lactante (figura 1). Las fórmulas de inicio presentan una concentración proteica que varía entre 12 y 18 g/L, para intentar cubrir los requerimientos proteicos, especialmente en el primer mes de vida, mientras que la leche madura humana apenas contiene 8-9 g/L. Por tanto, es evidente que la concentración proteica de una fórmula de inicio es más que suficiente durante el primer mes de vida e innecesariamente elevada a partir de entonces. Este aporte excesivo es más evidente a partir de los 6 meses de vida, cuando se inicia el *beikost* en la mayoría de los niños, especialmente en los países desarrollados, donde la alimentación complementaria aporta una gran cantidad de proteínas. Lönnerdal y Hernell² calculan una ingesta de unos 2,4 g/kg/día el primer mes, 2 g/kg/día a los 3 meses y 1,6 g/kg/día a los 6 meses, lo que representa un aporte del 40-60% de lo requerido. A este aporte también contribuye la mayor ingesta que realizan de media los niños alimentados con fórmula, frente a los lactados al pecho (1.000 mL frente a 700-800 mL a los 3-4 meses)². Se ha demostrado que este aporte es excesivo al hallar niveles elevados de aminoácidos en plasma, insulina, péptido C urinario y urea en lactantes alimentados con fórmula⁵. Aparte de estos datos analíticos, diferentes estudios recientes han demostrado que los niños alimentados con fórmulas con >2,1 g/100 kcal durante el primer año de vida crecen más rápido que los alimentados al pecho, y tiene un mayor riesgo de obesidad en la edad infantil⁶. Por ello, en muchas fórmulas infantiles se está disminuyendo el aporte proteico en su composición por debajo de 2 g/100 kcal. De hecho, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), en sus últimas recomendaciones, fija el límite superior del aporte proteico en las fórmulas de inicio y continuación en 2,5 g/100 kcal, con un límite inferior en 1,8 g/kcal⁷. Los estudios que han comparado fórmulas con un aporte proteico de 1,8 g/100 kcal frente a 2,1 g/100 kcal han demostrado que las fórmulas con menor aporte proteico ocasionan un crecimiento menos acelerado y una disminución del riesgo de obesidad, en comparación con las fórmulas con mayor aporte proteico. Pero dichos estudios siguen poniendo de manifiesto que los niños lactados al pecho tienen un crecimiento menos acelerado y un menor riesgo de obesidad. Esto ha motivado, junto con el

hecho comentado anteriormente respecto a que un aporte de 1,8 g/100 kcal sigue siendo superior a lo necesario, especialmente a partir del primer mes de vida, que se esté investigando con fórmulas con un menor aporte proteico. Así, algunas publicaciones obtienen datos de fórmulas con un aporte proteico de 1,6 g/100 kcal que demuestran un crecimiento idóneo con un menor riesgo de obesidad que las fórmulas con un mayor aporte proteico, tendencia que se mantiene a los 5 años de vida⁸. Aun así, la velocidad de crecimiento de estos niños en los primeros meses de vida sigue siendo superior a la de los lactados con leche materna⁸⁻¹⁰. Estos datos han propiciado que se investigue con fórmulas francamente «hipoproteicas» según las recomendaciones actuales (1,2 g/100 kcal), que muestran un crecimiento adecuado de los lactantes¹⁰.

Todos estos estudios provocan que se esté planteando dividir el periodo de 0-6 meses que abarcan clásicamente las fórmulas de inicio, en 2 periodos, uno de 0-3 meses y otro de 3-6 meses, en los que los niños recibirían una fórmula con un contenido tanto proteico como de oligosacáridos, minerales y otros elementos más adecuado a sus necesidades².

Cambios en el contenido lipídico

Los lípidos aportan energía, además de aroma y sabor a la leche, y ayudan al desarrollo del sistema nervioso central. En general, la leche humana contiene un 3,5-4,5% de lípidos, principalmente triglicéridos en un 95%^{2,3}. Casi la mitad de los ácidos grasos son saturados, con un 23% de ácido palmítico (C16:0) del total de ellos¹¹. También contiene ácido oleico (C18:1 ω 9), ácido graso monoinsaturado, en un alto porcentaje (36%). Le siguen el ácido mirístico (7%) y el esteárico (6%). La leche materna también contiene ácidos grasos esenciales: ácido linoleico (C18:2 ω 6) en un 15% y alfa-linolénico (C18:3 ω 3) en un 0,35%. Esos dos ácidos grasos son convertidos, respectivamente, en ácido araquidónico (AA, C20:4 ω 6) y ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5 ω 3), que, posteriormente, se transformará en ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 ω 3). Los AA, EPA y DHA son importantes reguladores de la respuesta inflamatoria, las funciones inmunes, la visión y el desarrollo cognitivo y motor. Además, se están investigando nuevas acciones sobre la disminución de las lesiones en la encefalopatía hipóxico-isquémica, la hemorragia intraventricular y la displasia broncopulmonar^{2,3,11}. Hay que reseñar que el contenido en la leche materna de ácidos grasos de cadena larga está relacionado con la dieta de la madre. Así, las mujeres vegetarianas tienen menos del 0,1% de DHA, mientras que las mujeres con una dieta basada en aceite de girasol y maíz presentan un 0,2-0,4%, frente a más del 0,8% en la leche de las mujeres que se alimentan con una dieta rica en pescado, soja, canola (una versión modificada del aceite de colza) y productos marinos, como algas. Se ha sugerido una ingesta de aproximadamente 300 mg/día de DHA para alcanzar niveles del 0,3-0,35%^{2,3}.

Además de una composición única, los ácidos grasos en la leche humana adoptan una estructura estereoespecífica —olei-

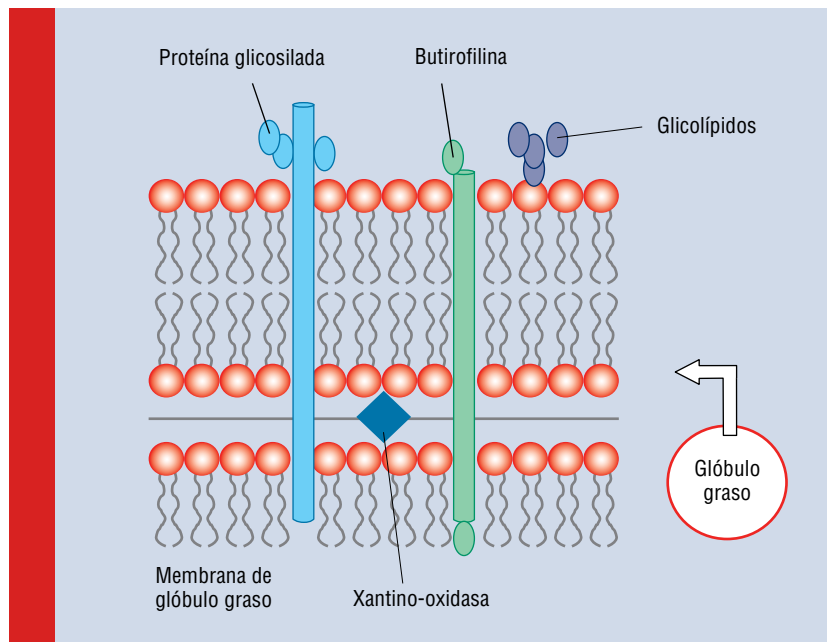


Figura 2. Estructura de la membrana de los glóbulos de lípidos en la leche materna

co-palmítico-oleico en un 21% y oleico-palmítico-linolénico en un 17% (β -palmitato)– que favorece la absorción de calcio, grasa y energía³.

Tanto la composición como la estructura de los lípidos de la leche de vaca son muy diferentes a las de la materna, lo que ha conllevado que clásicamente la fuente de lípidos de las fórmulas infantiles sea grasa de origen vegetal con una combinación de aceites de coco, palma, girasol, cártamo, soja, canola. La industria ha ido avanzando en la obtención de estos aceites, cada vez con una mayor similitud a la grasa de la leche humana, especialmente en su configuración espacial³. Uno de los aceites usados es el aceite de palma, que está siendo retirado de la composición de algunas fórmulas infantiles, en gran parte debido a la alarma social suscitada tras una advertencia de la EFSA, en la cual alertaba de la posibilidad de generar residuos con potencial cancerígeno tras el calentamiento que sufren estos aceites para su uso por parte de la industria¹². A esta alarma se le une que la com-

posición del aceite de palma es rica en un ácido graso saturado (un 49% de ácido palmítico)⁷ y, por tanto, no es recomendable un consumo excesivo del mismo. En defensa del aceite de palma y del ácido palmítico hay que decir que, como se ha mencionado anteriormente, se encuentra en condiciones normales en la leche humana (de hecho, es el ácido saturado más frecuente encontrado en la leche humana)⁷ y, por otro lado, tanto la EFSA como otros organismos, como la Asociación Española de Pediatría (AEP) y la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas (SEGHNP), han mostrado su respaldo a la utilización de aceite de palma en las condiciones en que se venía usando en las fórmulas para lactantes^{7,13,14}.

Además, respecto a la composición y la estructura típicas de los lípidos en la leche humana, hay que comentar que la grasa se organiza en una estructura única, los denominados glóbulos grasos de la leche (*milk fat globules* [MFG]) (figura 2). Dichos glóbulos contienen un núcleo central con ácidos grasos rodea-

TABLA 1	Estudios realizados en lactantes con MFGM				
	Lugar	Número de lactantes suplementados con MFGM/control	Edad	Objetivo primario	Objetivo secundario
	Francia/Italia ¹⁹	99/45	De 14 días a 4 meses	Ganancia de peso similar a los 4 meses	Mayor tasa de eccema en el grupo MFGM
	Suecia ^{10,19,21,22}	73/68	De <2 meses a 6 meses	Mayor puntuación cognitiva en la escala de Bayley III a los 12 meses	Menos incidencia de otitis media; mayor concentración de colesterol sérico
	Indonesia ²⁰	29/30	De <8 semanas a 6 meses	Mejor CI, coordinación manual y ocular; mejor coeficiente en la escala de Griffiths a las 24 semanas	Mayores niveles de gangliósidos
	CI: coeficiente de inteligencia; MFGM: <i>milk fat globules membrane</i> . Modificada de Timby et al. ¹⁶ .				

do por una membrana con actividad biológica (*milk fat globules membrane* [MFGM])³. Dicha capa está compuesta por 3 membranas que contienen:

- Fosfolípidos en un 30%, con esfingomielina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolaminas. Han demostrado tener un papel importante en el desarrollo neurológico.
- Gangliósidos (prácticamente todos los que contiene la leche humana) y colesterol. Implicados también en el desarrollo neurológico, así como en el desarrollo de la inmunidad intestinal y su microbiota.
- Multitud de proteínas (se han llegado a identificar hasta 244 en el concentrado de suero), entre las que se encuentran las siguientes:
 - Lactadherina, butirofilina y mucinas (MUc1), que tienen actividad antibacteriana y antiviral *in vitro* e *in vivo*^{15,16}.
 - Las MFGM también son ricas en proteínas glucosiladas¹⁶.

Diversos estudios han demostrado la acción de las proteínas MFGM en adultos y en niños mayores. Así, en adultos su consumo se ha asociado a un descenso en las cifras de colesterol y presión arterial, y una mejora en la diarrea asociada a *Escherichia coli*. En los niños de 4-11 años de edad, su consumo se ha asociado a un descenso en la diarrea y los días con fiebre, así como a una mejora en la conducta mientras se consume, según la puntuación obtenida en los cuestionarios^{16,17}; en los lactantes mayores de 6 meses que ya han iniciado alimentación complementaria, su administración ha demostrado un descenso en la incidencia de diarrea sanguinolenta¹⁸.

Diferentes estudios sobre proteínas MFGM de origen bovino han demostrado su seguridad en los lactantes¹⁹, un mejor desarrollo neurológico y cognitivo en los niños suplementados comparados con los que reciben fórmulas sin suplementar^{10,20}, una menor tasa de otitis media y un menor uso de antipiréticos, así como un perfil sérico de colesterol similar al de los lactados al pecho^{21,22}. Estos datos han propiciado la comercialización de fórmulas que incorporan MFGM en su composición. Aun así, hay que decir que los estudios al respecto son escasos, poco comparables y con un número bajo de participantes, por lo que los resultados, aunque prometedores, deben valorarse con precaución (tabla 1)¹⁶.

Cambios en el contenido hidrocarbonado. Oligosacáridos de la leche humana

Los oligosacáridos de la leche humana (OLH) son el tercer componente más abundante de la leche humana, y se han descrito más de 200. Tienen una concentración media de 1-12 g/L, aunque en el calostro alcanzan concentraciones de 20 g/L e incluso más altas²³⁻²⁶. Se distinguen 3 clases de OLH: fucosilados neutros (incluida la 2' fucosilatosa [2'FL]), no fucosilados neutros (incluida la lacto-N-neotetraosa [LNnT]) y acidificados (incluidas la 3'sialilactosa [3'SL] y la 6'sialilactosa [6'SL])²⁵. Dichos OLH son específicos de la especie humana al no encontrarse en otras especies de mamíferos, y presentan unas

estructuras químicas únicas y diferentes a las de otros oligosacáridos, como los GOS y los FOS²³. La mayor proporción de OLH incluye alrededor de 20 estructuras, incluido el 2'FL. Hay que tener presente que el patrón de OLH existente en la leche humana está condicionado por la posibilidad o no de llevar a cabo la fucosilación de los OLH. Dicha actividad está condicionada por un grupo determinado de histocompatibilidad antigénica sanguínea, denominado factor secretor, y el grupo sanguíneo de Lewis¹—el 80% de la población europea y americana es secretora—, lo que confiere a las mujeres la capacidad de secretar 2'FL²⁷. Se han realizado estudios en niños lactados al pecho de madres con diferentes concentraciones de 2'FL (en función de su estado secretor o no), en los que no se demuestran diferencias en su curva de crecimiento²⁸.

Se han descrito diferentes efectos de los OLH en el organismo:

- Señuelos para los sitios de unión de patógenos. Hay que tener en cuenta que las bacterias se comunican a través de enlaces de hidratos de carbono. Los OLH tienen estructuras muy parecidas a las de los receptores bacterianos de las células epiteliales, lo que logra confundir a dichas bacterias e impedir que se unan a las células intestinales.
- Refuerzan la función de barrera protectora intestinal al modelar las estructuras de las superficies celulares.
- Estimulan el crecimiento intestinal de bifidobacterias. En este sentido, algunos estudios han demostrado que ciertas subespecies de bifidobacterias tienen una capacidad diferente de utilizar OLH o no. Por tanto, sería importante poder discriminar en otros ensayos las subespecies de bifidobacterias y no sólo la cantidad total de ellas^{29,30}.
- Son inmunomoduladores. Hay estudios que han demostrado que los OLH modulan la expresión de CD14 en los enterocitos atenuando la respuesta inflamatoria, o activan la producción de CD11 en los TLR4^{24,31-34}.

Otra de las propiedades de los OLH es que, en gran parte, no son digeridos por las enzimas digestivas de los niños y son capaces de atravesar la barrera intestinal, por lo que se supone que actúan más allá del intestino. Por todas estas propiedades, los OLH se están incorporando a las fórmulas infantiles, propiedades que mantienen los OLH añadidos a las fórmulas suplementadas. Por otro lado, estudios como el de Marriage et al.²⁴ han demostrado que la tasa de absorción de 2'FL es similar

¹ El estado secretor es una condición determinada desde que nacemos por la acción de un gen específico, el de la enzima fucosil transferasa 2 (FUT2), la cual define la habilidad o capacidad de cada ser humano de secretar el antígeno del grupo de sangre en las secreciones corporales producidas en las vías digestivas, respiratorias, genitales y urinarias. Las personas que poseen una mutación genética de la FUT2 no son capaces de producir su grupo de sangre en los fluidos, razón por la que se les conoce como «no secretores». Debido a dicha característica, es posible evaluar esta mutación con un examen de saliva, en el que se mide la presencia o ausencia de este antígeno. El estado secretor es independiente del grupo de sangre y del factor Rhesus, o Rh. Es decir, una persona puede ser de grupo de sangre O (IV) Rh (-) y ser secretora o no secretora. En el caso de las personas secretoras de grupo de sangre AB, sus secreciones tendrán ambos antígenos. Así, la combinación de las 3 variables (4 grupos de sangre, 2 alternativas de factor Rh y estado secretor) proporcionará 16 combinaciones posibles. El estado de no secretor se ha relacionado con una mayor susceptibilidad frente a algunas enfermedades cardiovasculares y autoinmunes, así como con patrones distintos de flora intestinal que favorecen la aparición de infecciones.

entre los niños lactados al pecho y los alimentados con fórmula suplementada con 2'FL.

El único estudio disponible hasta el momento del uso de 2 OLH (2'FL y LNnT) es el de Puccio et al.²⁵. En él se analizó de manera aleatorizada y multicéntrica el uso de una fórmula con OLH frente a otra de semejantes características sin OLH. Los autores demostraron una tasa de crecimiento similar en ambas fórmulas, con un patrón ajustado a las curvas de crecimiento de la OMS. No encontraron diferencias en la tolerancia digestiva ni en la clínica de irritabilidad y horas de sueño, pero sí en la tasa de bronquitis que presentaban los niños suplementados, que fueron más bajas. También demostraron una menor incidencia de infecciones de las vías respiratorias bajas, del uso de antibióticos en los primeros 12 meses y del de antipiréticos en los primeros 4 meses de vida.

Por otro lado, debido a la dificultad para la obtención de estas estructuras, se ha investigado también el uso de los oligosacáridos presentes en la leche bovina, que, aunque en cuantía significativamente inferior (40 tipos frente a más de 200 de la leche humana)³⁰ y con una cantidad baja en fucosa (<5%), son ricos (>60%) en uno de los OLH frecuentes en la leche humana, el ácido siálico³⁵. De hecho, ya hay publicaciones sobre su uso en fórmulas infantiles en las que se ha demostrado su seguridad y la capacidad para modular el microbioma de los niños^{36,37}. En algunas de ellas se señala la especificidad de algunas cepas de bacterias prebióticas para consumir determinados componentes de los OLH. Así, por ejemplo, *Bifidobacterium breve* consume 3FL y LNT, pero no 2'FL³⁸, y *B. longum* subsp. *infantis* es capaz de consumir todos los OLH, mientras que *B. bifidum* sólo algunos. De esta forma se modularía el desarrollo de unas especies frente a otras en función del tipo de OLH³⁹.

Conclusiones

Las fórmulas infantiles están en constante evolución, en cuya investigación se busca no sólo un beneficio nutricional, sino también mejoras en el estado inmunológico, la función digestiva y el desarrollo del niño, buscando igualar el perfil nutricional de la leche materna.

A través de los ensayos en marcha, los investigadores continúan estudiando los componentes de la leche humana y las necesidades específicas de nutrientes de los lactantes. Se requieren más estudios a largo plazo con un mayor número de lactantes para comprobar que los beneficios potenciales de estas modificaciones se concretan en resultados clínicos. ■

Bibliografía

1. Meek JY, Hatcher AJ. Breastfeeding so. The «breastfeeding-friendly» pediatric office practice. *Pediatrics*. 2017; 139(5).
2. Lönnerdal B, Hernell O. An opinion on «staging» of infant formula: a developmental perspective on infant feeding. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016; 62(1): 9-21.
3. Zou L, Pande G, Akoh CC. Infant formula fat analogs and human milk fat: new focus on infant developmental needs. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2016; 7: 139-165.
4. Martin CR, Ling PR, Blackburn GL. Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula. *Nutrients*. 2016; 8(5).
5. Lönnerdal B, Kvistgaard AS, Peerson JM, Donovan SM, Peng YM. Growth, nutrition, and cytokine response of breast-fed infants and infants fed formula with added bovine osteopontin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016; 62(4): 650-657.
6. Weber M, Grote V, Closa-Monasterolo R, Escribano J, Langhendries JP, Dain E, et al. Lower protein content in infant formula reduces BMI and obesity risk at school age: follow-up of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2014; 99(5): 1.041-1.051.
7. EFSA NDA Panel (EFSA Panel of Dietetic Products, Nutrition and Allergies), 2014. Scientific opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. *EFSA J*. 2014; 12/7 (3769): 106.
8. Haschke F, Grathwohl D, Haiden N. Metabolic programming: effects of early nutrition on growth, metabolism and body composition. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2016; 86: 87-95.
9. Ziegler EE, Fields DA, Chernausk SD, Steenhout P, Grathwohl D, Jeter JM, et al. Adequacy of infant formula with protein content of 1.6 g/100 kcal for infants between 3 and 12 months. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015; 61(5): 596-603.
10. Timby N, Domellöf E, Hernell O, Lönnerdal B, Domellöf M. Neurodevelopment, nutrition, and growth until 12 mo of age in infants fed a low-energy, low-protein formula supplemented with bovine milk fat globule membranes: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2014; 99(4): 860-868.
11. Uauy R, Mena P. Long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation in preterm infants. *Curr Opin Pediatr*. 2015; 27(2): 165-171.
12. Process contaminants in vegetable oils and foods. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/160503a>
13. Aceite de palma. Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/aceite_palma.htm
14. Comunicado sobre el aceite de palma y ácido palmítico en la alimentación infantil. Disponible en: <https://www.seghnp.org/documentos/comunicado-sobre-el-aceite-de-palma-y-acido-palmitico-en-la-alimentacion-infantil>
15. Lönnerdal B. Bioactive Proteins in human milk: health, nutrition, and implications for infant formulas. *J Pediatr*. 2016; 173 Suppl: 4-9.
16. Timby N, Domellöf M, Lönnerdal B, Hernell O. Supplementation of infant formula with bovine milk fat globule membranes. *Adv Nutr*. 2017; 8(2): 351-355.
17. Veereman-Wauters G, Staelens S, Rombaut R, Dewettinck K, Deboutte D, Brummer RJ, et al. Milk fat globule membrane (IN-PULSE) enriched formula milk decreases febrile episodes and may improve behavioral regulation in young children. *Nutrition*. 2012; 28(7-8): 749-752.
18. Zavaleta N, Kvistgaard AS, Graverholt G, Respicio G, Guija H, Valencia N, et al. Efficacy of an MFGM-enriched complementary food in diarrhea, anemia, and micronutrient status in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011; 53(5): 561-568.
19. Billeaud C, Puccio G, Saliba E, Guillois B, Vaysse C, Pecquet S, et al. Safety and tolerance evaluation of milk fat globule membrane-enriched infant formulas: a randomized controlled multicenter non-inferiority trial in healthy term infants. *Clin Med Insights Pediatr*. 2014; 8: 51-60.

20. Gurnida DA, Rowan AM, Idjradinata P, Muchtadi D, Sekarwana N. Association of complex lipids containing gangliosides with cognitive development of 6-month-old infants. *Early Hum Dev.* 2012; 88(8): 595-601.
21. Timby N, Hernell O, Vaarala O, Melin M, Lönnerdal B, Domellöf M. Infections in infants fed formula supplemented with bovine milk fat globule membranes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 60(3): 384-389.
22. Timby N, Lönnerdal B, Hernell O, Domellöf M. Cardiovascular risk markers until 12 mo of age in infants fed a formula supplemented with bovine milk fat globule membranes. *Pediatr Res.* 2014; 76(4): 394-400.
23. Thurl S, Munzert M, Boehm G, Matthews C, Stahl B. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk. *Nutr Rev.* 2017; 75(11): 920-933.
24. Marriage BJ, Buck RH, Goehring KC, Oliver JS, Williams JA. Infants fed a lower calorie formula with 2'FL show growth and 2'FL uptake like breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015; 61(6): 649-658.
25. Puccio G, Alliet P, Cajozzo C, Janssens E, Corsello G, Sprenger N, et al. Effects of infant formula with human milk oligosaccharides on growth and morbidity: a randomized multicenter trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017; 64(4): 624-631.
26. Vandenplas Y, Zakharova I, Dmitrieva Y. Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics. *Br J Nutr.* 2015; 113(9): 1.339-1.344.
27. Kunz C, Meyer C, Collado MC, Geiger L, García-Mantrana I, Bértua-Ríos B, et al. Influence of gestational age, secretor, and lewis blood group status on the oligosaccharide content of human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017; 64(5): 789-798.
28. Sprenger N, Lee LY, De Castro CA, Steenhout P, Thakkar SK. Longitudinal change of selected human milk oligosaccharides and association to infants' growth, an observatory, single center, longitudinal cohort study. *PLoS One.* 2017; 12(2): e0171814.
29. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 14(8): 491-502.
30. Barile D, Rastall RA. Human milk and related oligosaccharides as prebiotics. *Curr Opin Biotechnol.* 2013; 24(2): 214-219.
31. He Y, Liu S, Kling DE, Leone S, Lawlor NT, Huang Y, et al. The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose modulates CD14 expression in human enterocytes, thereby attenuating LPS-induced inflammation. *Gut.* 2016; 65(1): 33-46.
32. Musilova S, Modrackova N, Dorskocil I, Svejtil R, Rada V. Influence of human milk oligosaccharides on adherence of bifidobacteria and clostridia to cell lines. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2017: 1-8.
33. Kuntz S, Rudloff S, Kunz C. Oligosaccharides from human milk influence growth-related characteristics of intestinally transformed and non-transformed intestinal cells. *Br J Nutr.* 2008; 99(3): 462-471.
34. Holscher HD, Davis SR, Tappenden KA. Human milk oligosaccharides influence maturation of human intestinal Caco-2Bbe and HT-29 cell lines. *J Nutr.* 2014; 144(5): 586-591.
35. Ruhaak LR, Lebrilla CB. Analysis and role of oligosaccharides in milk. *BMB Rep.* 2012; 45(8): 442-451.
36. Meli F, Puccio G, Cajozzo C, Ricottone GL, Pecquet S, Sprenger N, et al. Growth and safety evaluation of infant formulae containing oligosaccharides derived from bovine milk: a randomized, double-blind, noninferiority trial. *BMC Pediatr.* 2014; 14: 306.
37. Simeoni U, Berger B, Junick J, Blaut M, Pecquet S, Rezzonico E, et al. Gut microbiota analysis reveals a marked shift to bifidobacteria by a starter infant formula containing a synbiotic of bovine milk-derived oligosaccharides and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* CNCM I-3446. *Environ Microbiol.* 2016; 18(7): 2.185-2.195.
38. Underwood MA, Davis JCC, Kalanetra KM, Gehlot S, Patole S, Tancredi DJ, et al. Digestion of human milk oligosaccharides by *Bifidobacterium breve* in the premature infant. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017; 65(4): 449-455.
39. Thongaram T, Hoeflinger JL, Chow J, Miller MJ. Human milk oligosaccharide consumption by probiotic and human-associated bifidobacteria and lactobacilli. *J Dairy Sci.* 2017; 100(10): 7.825-7.833.