Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

EL RÉGIMEN DE LACTANCIA INFLUENCIA LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA Y ASÍ CONDICIONA LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DEL NIÑO

Por:

Omar Alejandro Trujillo Rivera

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

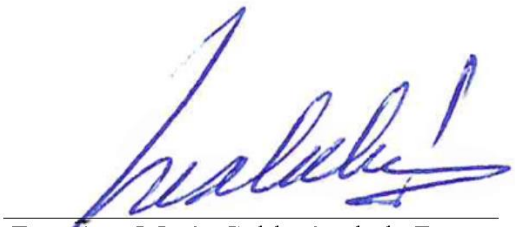
Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora Agosto, 2023

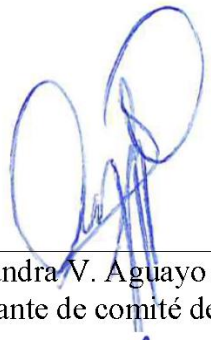
APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Omar Alejandro Trujillo Rivera, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dra. Ana María Calderón de la Barca
Directora de tesis

Dra. Graciela Caire Juvera
Integrante de comité de tesis



Dra. Sandra V. Aguayo Patrón
Integrante de comité de tesis

Dr. Humberto F. Astiazarán García
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "El Régimen de Lactancia Influencia la Composición de la Microbiota y así Condiciona la Velocidad de Crecimiento del Niño" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Omar Alejandro Trujillo Rivera, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos

CIAD

Dra. Graciela Caire Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, doy gracias al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo económico otorgado para la realización de mis estudios de maestría en ciencias.

Asímismo expreso mi profundo agradecimiento al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD A.C.) por abrirme las puertas de sus instalaciones. Su valioso respaldo ha sido fundamental para el éxito de mi investigación en esta maestría en ciencias.

A la Dra. Ana María Calderón de la Barca por su invalorable guía y apoyo como mi directora de tesis. Desde el inicio de este proyecto, su confianza en mí ha sido fundamental para mi desarrollo académico. Su dedicación y conocimientos han sido una fuente constante de inspiración. Su orientación experta y sus comentarios perspicaces han enriquecido mi trabajo y me han impulsado a superar mis propias expectativas. Estoy enormemente agradecido por su compromiso, paciencia y por brindarme la oportunidad de formarme como investigador.

A los distinguidos miembros de mi comité de tesis, la Dra. Sandra Aguayo, la Dra. Graciela Caire y el Dr. Humberto Astiazarán por su aceptación para formar parte de este proyecto y su compromiso constante en enriquecer mi investigación. Su experiencia y valiosos aportes han sido fundamentales para el desarrollo y la calidad de este trabajo. A través de sus comentarios y sugerencias, han desafiado mis ideas, ampliando mi perspectiva y ayudándome a alcanzar resultados más sólidos. Estoy sumamente agradecido por su dedicación y por compartir generosamente su conocimiento durante todo el proceso.

Agradezco a la Estancia Infantil Nuevo Día y a Denisse Isabel Boneo Duarte, por su generosidad al permitirme acceder a sus instalaciones y por brindarme un valioso respaldo en la selección de participantes. Su colaboración fue fundamental para el desarrollo de mi investigación.

A Alejandra Argüelles, mi compañera de equipo, le agradezco sinceramente su orientación, dedicación y por compartir este proyecto conmigo. Su colaboración fue fundamental para el éxito de nuestra investigación.

Al Q.B. René Valenzuela y a la M.C. Adriana Bolaños ambos por ser la alegría constante del laboratorio y por su disponibilidad incondicional para ayudar.

Quiero agradecer a mis compañeros y amigos de maestría Fernanda Cabrer, Arath García, Brenda

Valle, Cristian Tonopomea, Iván Reprieto, Paola Santana y Kathia Enriquez por su apoyo constante y colaboración durante este viaje académico. Su amistad y compañerismo fueron fundamentales para alcanzar este logro y volver el camino más ameno.

A mis padres hermosos, Felipe Trujillo y Consuelo Rivera, quienes han sido una gran fuente de inspiración y aliento. Su orgullo constante y apoyo incondicional me han impulsado a superar obstáculos y perseverar en esta travesía académica. Agradezco profundamente su amor y confianza en mí.

A mi adorada esposa Dulce Machado y a mis amados hijos Adrian y Arian Trujillo, me faltan palabras para expresar la gratitud que siento por contar con ustedes en mi vida. Su presencia ilumina mi camino, llena mis días de alegría y rejuvenece mi espíritu en los momentos más desafiantes.

Dulce, tú eres mi fiel compañera, mi fortaleza ante todo y mi refugio en las tormentas. Tu amor y apoyo constante me impulsan a alcanzar mis sueños, incluso cuando la ruta se torna difícil. Tus palabras de aliento y gestos de afecto son un bálsamo para mi alma, y saber que siempre puedo contar contigo me da confianza y fortaleza.

Adrian y Arian, ustedes son mi mayor fuente de inspiración. Sus risas contagiosas, sus abrazos cálidos y su inagotable capacidad para ver el mundo con asombro y curiosidad me recuerdan el verdadero valor de cada logro. Su presencia en mi vida me motiva a esforzarme cada día, a ser un ejemplo digno a seguir y a construir un futuro mejor para ustedes.

A lo largo de este camino académico, han estado conmigo, animándome en los momentos de duda, celebrando mis éxitos y tratando de sembrar una sonrisa en mí en mis momentos de frustración. Han sido testigos de mis sacrificios, de las largas noches de estudio y de mi incansable dedicación. A pesar de todo, nunca han dejado de apoyarme, de recordarme el motivo detrás de mis esfuerzos y de darme el empuje necesario para seguir adelante.

Quiero que sepan que todo lo que he logrado en esta tesis de posgrado no habría sido posible sin su amor, comprensión y apoyo. Han sido mi luz en la oscuridad, mi motivación para superar los obstáculos y mi constante recordatorio de lo que realmente importa en la vida. Cada línea escrita, cada experimento realizado, ha tenido el objetivo de crear un futuro mejor para ustedes.

Mi corazón se desborda de gratitud por tener a tres seres tan especiales en mi vida. No hay palabras suficientes para expresar cuánto los amo y cuánto aprecio todo lo que hacen por mí. En cada logro que alcance, en cada meta que cumpla, sepan que ustedes estarán en el centro de mi reconocimiento, porque su amor y apoyo son mi mayor triunfo.

Gracias, Dulce, Adrían y Arian, por ser mi familia, mi principal inspiración y mi razón para nunca rendirme. Caminaré con la frente en alto sabiendo que tengo a tres ángeles en mi vida que me impulsan a seguir creciendo, a seguir luchando y a seguir persiguiendo mis sueños.

DEDICATORIA

A mis padres, mis hermanos, mi esposa y, sobre todo, a mis hijos.

"*Los días más importantes en tu vida son el día en que naces y el día en que descubres por qué.*"

- Mark Twain

CONTENIDO

APROBACIÓN....2
DECLARACIÓN INTISTUCIONAL....3
AGRADECIMIENTOS....4
DEDICATORIA....7
LISTA DE FIGURAS....10
LISTA DE CUADROS....11
RESUMEN....12
ABSTRACT....13
1. INTRODUCCIÓN....14
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN....15
2.1 Teoría DOHaD y Microbiota Intestinal....15
2.2. Importancia de la Microbiota Intestinal en la Salud Infantil....16
2.2.1. Funciones de la Microbiota Intestinal....16
2.2.2. Asociación entre Microbiota Intestinal y las Enfermedades....17
2.2.3. Microbiota Intestinal como Regulador del Sistema Inmunitario....18
2.3. Importancia del Régimen de Lactancia en la Microbiota Intestinal....19
2.3.1. Lactancia Materna Exclusiva....20
2.3.2. Lactancia con Fórmula Infantil....20
2.3.3. Lactancia Mixta....21
2.3.4. Dieta Materna Durante el Amamantamiento....22
2.3.5. Estado Nutricional Materno Durante el Amamantamiento....23
2.3.6. La Leche Materna en Constante Cambio para Beneficio del Niño....23
2.4 Maduración de la Microbiota Intestinal del Infante....24
2.5. Crecimiento Infantil y Microbiota Intestinal....25
2.5.1. Crecimiento Óptimo....25
2.5.2. Crecimiento Acelerado....25
3. HIPÓTESIS....27
4. OBJETIVOS....28
4.1. Objetivo General....28
4.2. Objetivos Particulares....28
5. PARTICIPANTES Y MÉTODOS....29
5.1 Participantes....29
5.2. Datos Demográficos y de Salud....29
5.3. Datos Antropométricos....30
5.4. Análisis de la Microbiota....30
5.5. Análisis Estadístico....32

CONTENIDO (continuación)

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....34

6.1. Características Demográficas y Perinatales de los Participantes.....34
6.2. Lactancia y Crecimiento: Impacto a los 6 y 12 Meses.....35
6.3. Crecimiento Acelerado: Riesgo en Lactancia Mixta.....36
6.4. Géneros y Especies en la Microbiota Fecal de los Lactantes.....37
6.5. Factores Predictores de Crecimiento Acelerado.....40

7. CONCLUSIÓN.....42

8. REFERENCIAS.....43

LISTA DE FIGURAS

Figura **Página**

1. Cambios en la velocidad de crecimiento por grupo de lactancia…….37
2. Comparativa de microbiota intestinal entre régimen de lactancia……40

LISTA DE CUADROS

Cuadro **Página**

1. Iniciadores utilizados en la detección de géneros bacterianos……31
2. Características generales y perinatales de los participantes……..……35
3. Mediciones y puntajes-z en el crecimiento infantil a los 5-6 y 12 meses……36
4. Variables predictoras de velocidad de crecimiento……..…….41

RESUMEN

En esta tesis abordamos el crecimiento acelerado del niño durante el primer año de vida, un problema que se asocia con la obesidad y enfermedades crónicas, y cómo lo afecta la composición de la microbiota intestinal, influenciada a su vez por el régimen de lactancia. OBJETIVO: Comparar el impacto del amamantamiento en exclusiva (AMAM) con el régimen de lactancia mixta (MIX), durante los primeros 6 meses de vida, en la composición de la microbiota fecal y su efecto en la velocidad de crecimiento hasta los 12 meses de vida de los niños. MÉTODOS: Invitamos a las diadas participantes en grupos de apoyo, redes sociales y estancias infantiles; colectamos información demográfica, de salud y mediciones antropométricas. Extrajimos ADNg de heces y comparamos entre el grupo AMAM y el MIX, los géneros *Prevotella, Akkermansia*, *Bifidobacterium, Lactobacillus* y *Bacteroides*, por PCR en tiempo real. RESULTADOS: No hubo diferencias significativas en las características basales demográficas y perinatales entre los grupos AMAM y MIX. Sin embargo, a los 6 y 12 meses de edad, los infantes MIX en comparación con los AMAM, presentaron valores mayores de peso y puntajes-z de peso/talla y peso/edad, así como de aceleración del crecimiento. En microbiota, los infantes AMAM mostraron una mayor abundancia de *Bifidobacterium*, que fue factor protector contra el crecimiento acelerado. Contrariamente, los infantes MIX presentaron una microbiota fecal con maduración temprana, representadas por *Prevotella* y *Bacteroides*, posiblemente vinculado con su crecimiento acelerado. CONCLUSIÓN: El régimen de lactancia influyó en la composición de la microbiota, la cual a su vez impactó la velocidad de crecimiento de los infantes. Esto resalta la importancia del amamantamiento exclusivo para un crecimiento óptimo y saludable.

Palabras clave: amamantamiento; regimen de lactancia; microbiota; crecimiento acelerado.

ABSTRACT

In this thesis, we address the infant rapid growth in the first year of life, a problem associated with obesity and chronic diseases, and how affect it the composition of the intestinal microbiota, influenced by the lactation regime. OBJECTIVE: To compare the impact of exclusive breastfeeding (AMAM) with mixed feeding (MIX) during the first 6 months of life on the composition of fecal microbiota and its effect on the growth velocity up to 12 months old children. METHODS: We invited dyads to participate in breastfeeding support groups, social networks, and childcare facilities and collected demographic, health, and anthropometric data. We extracted DNA from feces and compared the genera *Prevotella*, *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Bacteroides* between the AMAM and MIX groups using real-time PCR. RESULTS: There were no significant differences in baseline demographic and perinatal characteristics between the AMAM and MIX groups. However, at 6 and 12 months of age, MIX compared to AMAM infants had higher values for weight, weight-for-length and weight-for-age z-scores, as well as for rapid growth. In terms of microbiota, AMAM infants showed a higher abundance of *Bifidobacterium*, which was a protective factor against rapid growth. Conversely, MIX infants had fecal microbiota with early maturation, represented by *Prevotella* and *Bacteroides*, possibly linked to their rapid growth. CONCLUSION: The breastfeeding regimen influenced the composition of the microbiota, which in turn impacted the growth velocity of infants. This highlights the importance of exclusive breastfeeding for optimal and healthy growth.

Keywords: breastfeeding; breastfeeding regimens; microbiota; rapid growth.

1. INTRODUCCIÓN

La colonización de la microbiota intestinal durante las primeras etapas de la vida impacta en forma importante el crecimiento óptimo de los niños. A su vez, la estructura y funcionalidad de la microbiota dependen, en gran medida, del régimen de lactancia (Zhuang et al., 2019). Los patrones de ganancia de peso y crecimiento acelerados se asocian a obesidad infantil y a otras enfermedades (Halilagic y Moschonis, 2021). Aunque el crecimiento acelerado es más común en infantes alimentados con fórmula, también puede ocurrir en los amamantados (Zong et al., 2020). La composición de la leche, es crucial para el desarrollo adecuado de la microbiota intestinal y constituye la principal fuente de nutrición en los primeros seis meses de vida (Yi y Kim, 2021). La leche humana, contiene nutrientes esenciales, células inmunitarias, hormonas del crecimiento y compuestos bioactivos con propiedades antiinflamatorias y antiinfecciosas (Notarbartolo et al., 2022). Su composición puede variar por factores ambientales maternos, como la dieta y se adapta a las necesidades nutricionales del amamantado (Zhu y Dingess, 2019).

Los componentes de la leche materna promueven una microbiota intestinal saludable, que a su vez influye sobre el crecimiento y la salud; sin embargo, aún queda mucho por investigar sobre los mecanismos específicos que subyacen a estos efectos (Le Doare et al., 2018). Diversos estudios sobre microbiota y patrones de crecimiento, consideran la desnutrición (McGuire y McGuire, 2021). Otros, se han dirigido a investigar asociaciones de la ganancia rápida de peso en los primeros meses de vida, la maduración de la microbiota, y el desarrollo posterior desfavorable (Tang et al., 2022), ya que predice adiposidad en el futuro (Robertson et al., 2019).

Debido a la influencia del ambiente y de las características genéticas y sociodemográficas de cada población, sobre la composición fina de la leche humana y por tanto sobre la microbiota, es importante estudiar el conjunto en cada población en particular. Así, en la presente tesis se propuso investigar el efecto de dos regímenes de lactancia, durante los primeros 6 meses de vida, sobre la composición de la microbiota y su influencia en los cambios en la velocidad del crecimiento, a los 12 meses de vida de niños hermosillenses. Los resultados podrían fundamentar el diseño de intervenciones nutricionales y estrategias de prevención que fomenten un crecimiento saludable y reduzcan el riesgo de obesidad y sus consecuencias en el futuro. Además, al entender los mecanismos subyacentes a los efectos beneficiosos de la leche materna, se podrían hacer recomendaciones eficaces para las prácticas de lactancia.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

2.1 Teoría DOHaD y Microbiota Intestinal

La Teoría del Origen de la Salud y la Enfermedad en el Desarrollo (DOHaD, por sus siglas en inglés) sostiene que el entorno temprano de un individuo, durante el periodo fetal y la lactancia, tiene un impacto significativo en la salud a lo largo de la vida (Nobile et al., 2022). En dicho entorno, es un componente esencial la formación de la microbiota intestinal, cuya diversidad y composición están influenciadas por diversos factores, incluido el régimen de lactancia (Niu et al., 2020). Además, la microbiota intestinal influye sobre la función del sistema inmunitario, la digestión, absorción de nutrientes y la producción de metabolitos que pueden tener efectos sistémicos en el cuerpo (Miniet et al., 2021). La disbiosis intestinal temprana, es decir, un desequilibrio en la composición de la microbiota, se asocia con un mayor riesgo de alergias, asma y enfermedades autoinmunitarias (Hufnagl et al., 2020).

La teoría DOHaD resalta la importancia de intervenciones tempranas para promover la salud a lo largo de la vida. Es fundamental estimular el equilibrio de la microbiota intestinal en los lactantes, mediante la alimentación, como la lactancia materna exclusiva en los primeros seis meses y la introducción oportuna de alimentos complementarios (Lisboa et al., 2021). Después de identificar factores de riesgo, las intervenciones deberían dirigirse a mejorar la microbiota intestinal para prevenir enfermedades crónicas (Durack y Lynch, 2019; Mandy y Nyirenda, 2018). De este modo, si la velocidad de crecimiento se ve afectada por la estructura y funcionalidad de la microbiota intestinal del lactante a los seis meses de edad, entonces hay un área de oportunidad para prevenir enfermedades asociadas con el crecimiento acelerado.

2.2. Importancia de la Microbiota Intestinal en la Salud Infantil

2.2.1. Funciones de la Microbiota Intestinal

La microbiota intestinal desempeña un papel esencial en la digestión y absorción de nutrientes, al fermentar componentes no digeribles, como la fibra dietética, y producir metabolitos bioactivos que benefician al hospedero (Debnath et al., 2021; Oliphant y Allen-Vercoe, 2019). Además, la microbiota intestinal participa en la síntesis de vitaminas, como las C, K y algunas del complejo B, que son esenciales para la función metabólica y celular (Zhai et al., 2022; Zhan et al., 2022). Estas funciones son especialmente relevantes en el contexto de la lactancia, donde el crecimiento y desarrollo infantil, dependen de la adecuada absorción de nutrientes.

La microbiota intestinal también interviene en la regulación del metabolismo energético, influyendo en el balance energético y la distribución de la grasa corporal (Xiao y Kang, 2020). Los estudios en modelos animales, como los realizados por Hou et al., (2022), han demostrado que la manipulación de la microbiota puede alterar la eficiencia de absorción de energía y modificar el fenotipo metabólico del hospedero. Estas interacciones metabólicas podrían tener implicaciones en la velocidad del crecimiento durante el primer año de vida, lo cual es un tema central en la presente tesis. Es importante la investigación en esta área, para comprender cómo la microbiota intestinal puede ser un factor determinante en el crecimiento infantil y, en última instancia, en la prevención de enfermedades relacionadas con el crecimiento acelerado.

La microbiota intestinal contribuye a la maduración y educación del sistema inmunitario del hospedero, promoviendo el desarrollo de la inmunidad innata y adaptativa, y manteniendo la homeostasis inmunitaria (Dogra et al., 2021). Según Wang et al., (2020), estas interacciones inmunomoduladoras son cruciales en la etapa temprana de la vida, ya que influyen en la susceptibilidad a enfermedades inmunomediadas y en la tolerancia a antígenos alimentarios. Por lo tanto, se debe estudiar el papel de la microbiota intestinal durante la infancia, ya que puede proporcionar información valiosa para desarrollar intervenciones que prevengan o traten enfermedades relacionadas con la respuesta inmune, entre otras las autoinmunes.

2.2.2. Asociación entre Microbiota Intestinal y las Enfermedades

Es fundamental conocer la relación entre la microbiota intestinal y las enfermedades para poder prevenirlas y tratarlas adecuadamente (K. Hou et al., 2022). Hasta hace pocos años, la investigación se centraba únicamente en la relación entre enfermedades del sistema digestivo y la microbiota intestinal. Actualmente, como señalan (Vijay y Valdes, 2022), hay cada vez más estudios que muestran una estrecha relación entre la salud en general y la microbiota intestinal. Por lo tanto, es importante prestar atención a la salud de la microbiota intestinal desde una edad temprana, especialmente durante el periodo de lactancia, por su impacto en la salud a largo plazo. Este enfoque preventivo puede contribuir a una vida más saludable y a la reducción de enfermedades asociadas a desequilibrios en la microbiota intestinal.

Entre las enfermedades asociadas a la composición y función de la microbiota intestinal se incluyen los trastornos metabólicos, como obesidad y diabetes tipo 2 (Gagnon et al., 2023). La disbiosis puede contribuir al desarrollo de estas patologías al afectar el metabolismo energético y la homeostasis de glucosa e insulina (Parkin et al., 2021; Scheithauer et al., 2020). Dado que la lactancia y la nutrición temprana pueden moldear la composición de la microbiota, es plausible, una conexión entre el régimen de lactancia y el riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas en etapas posteriores de la vida, como se ha propuesto desde hace muchos años.

Además, la microbiota intestinal también está relacionada con trastornos neuropsiquiátricos, como la depresión y el trastorno del espectro autista (Taniya et al., 2022). Estudios como el de Mitrea et al., (2022), han demostrado que la microbiota intestinal puede comunicarse con el sistema nervioso central a través del eje intestino-cerebro, influyendo en el comportamiento neuronal. Este hallazgo destaca la importancia de investigar aún más la relación entre la microbiota intestinal, la lactancia y las enfermedades para desarrollar estrategias de prevención y tratamiento más efectivas.

La microbiota intestinal también se ha asociado con enfermedades autoinmunes e inflamatorias, como la enfermedad inflamatoria intestinal y la enfermedad celíaca (Kociszewska y Vlajkovic, 2022). La disbiosis facilita la inflamación al permitir el paso de bacterias y antígenos a través del epitelio intestinal, lo que desencadena respuestas inmunitarias aberrantes (Kaczmarczyk et al., 2021). Los cambios en la microbiota intestinal inducidos por el tipo de lactancia podrían tener implicaciones en la predisposición a enfermedades autoinmunes e inflamatorias en los niños

(Mishra et al., 2023). Sin embargo, como mencionan estos últimos autores, se requieren más estudios para establecer una relación causal y determinar si las intervenciones en la lactancia podrían ser útiles para prevenir o mitigar estos trastornos.

2.2.3. Microbiota Intestinal como Regulador del Sistema Inmunitario

La microbiota intestinal desempeña un papel fundamental en la regulación del sistema inmune, contribuyendo a la educación y maduración de la inmunidad innata y adaptativa. La interacción entre la microbiota y las células del sistema inmune en la mucosa intestinal, permite el desarrollo de respuestas inmunitarias equilibradas y específicas frente a patógenos y antígenos alimentarios (Jiao et al., 2020). La lactancia materna, en particular, podría ser clave en la modulación de la microbiota y, por lo tanto, en la maduración del sistema inmune del lactante (Lieke et al., 2019). La microbiota intestinal promueve la tolerancia inmunitaria al regular la función de las células T reguladoras (Treg), indispensables para mantener la homeostasis inmunitaria, previniendo respuestas inmunitarias excesivas (Cosovanu y Neumann, 2020). Los microorganismos y sus metabolitos, como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) producidos a partir de la fermentación de fibra dietética, pueden inducir células Treg (Du et al., 2022). El tipo de lactancia y la composición de la microbiota pueden influir en la producción de AGCC y otros metabolitos, lo que podría impactar en la función de las células Treg y la tolerancia inmunitaria en los lactantes (Łoniewski et al., 2022).

La microbiota intestinal también contribuye a la defensa del hospedero frente a patógenos mediante la producción de metabolitos antimicrobianos, como bacteriocinas y ácidos orgánicos (Campbell et al., 2023; Liu et al., 2022). Además, la microbiota puede competir con patógenos por nutrientes y sitios de adhesión en la mucosa intestinal, un mecanismo conocido como exclusión competitiva (Celis y Relman, 2020). El establecimiento de una microbiota intestinal saludable durante la lactancia, podría mejorar la resistencia del hospedero frente a infecciones y disminuir la susceptibilidad a enfermedades infecciosas, favoreciendo así un crecimiento infantil óptimo.

2.3. Importancia del Régimen de Lactancia en la Microbiota Intestinal

Del régimen de lactancia depende principalmente, la configuración de la microbiota intestinal durante la infancia temprana, influyendo en la diversidad y composición de las comunidades bacterianas (Ma et al., 2020). Notarbartolo et al., (2022) destacan que la lactancia materna proporciona una fuente de bacterias y nutrientes específicos que favorecen el establecimiento de una microbiota beneficiosa; mientras que Jeong (2022) señala que la lactancia con fórmula puede dar lugar a una composición bacteriana diferente. La diversidad y composición de la microbiota intestinal en los primeros meses de vida tienen efectos duraderos en la salud y el desarrollo del niño (Ahearn-Ford et al., 2022).

La lactancia materna promueve el establecimiento de una microbiota intestinal saludable, con mayor abundancia de bacterias conocidas por sus propiedades probióticas (Sun et al., 2020). Lawson et al., (2020) indican que la leche materna contiene oligosacáridos, que actúan como prebióticos, favoreciendo el crecimiento y metabolismo de estas bacterias beneficiosas. En contraparte, Sekerel et al., (2021) señalan que las fórmulas infantiles, aunque intentan imitar la composición de la leche materna, carecen de algunos HMO y otros componentes bioactivos. Esto, da lugar a una microbiota intestinal con menor diversidad y una composición diferente en los niños alimentados con fórmula, en comparación con los niños amamantados.

El régimen de lactancia también puede afectar la capacidad de colonización de bacterias específicas en el intestino del lactante (Boudry et al., 2021). Esto dará lugar a la producción de metabolitos bioactivos como AGCC, poliaminas, aminas biogénicas y ácido indol-3-propiónico (Calvo-Barreiro et al., 2023; Tofalo et al., 2019). Najafian y Khosravi (2020), sugieren que la lactancia materna puede proporcionar una ventaja en la prevención de enfermedades y el desarrollo del sistema inmune, gracias a la modulación de la microbiota intestinal y sus funciones, a través de los metabolitos activos producidos. Por lo tanto, la elección del régimen de lactancia durante los primeros meses de vida es crucial para establecer la estructura y función de la microbiota intestinal, lo que puede tener implicaciones a largo plazo en la salud y el crecimiento óptimo del niño.

2.3.1. Lactancia Materna Exclusiva

La lactancia materna exclusiva implica dar únicamente leche materna al lactante, sin otros líquidos o alimentos, y se aconseja hasta los seis meses de vida, tal y como lo señalan la Organización Mundial de la Salud (2003). Es fundamental para el crecimiento y desarrollo adecuados del lactante, ya que proporciona nutrimentos y compuestos bioactivos necesarios. Además, Chavoya-Guardado et al., (2022) señalan que es la principal fuente postnatal de bacterias comensales que colonizan el intestino del recién nacido.

Durante el amamantamiento exclusivo, los niños presentan una microbiota intestinal beneficiosa, con gran presencia de los filos Actinobacteria y Firmicutes. Los géneros bacterianos predominantes son *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, respectivamente, cuyas propiedades probióticas protegen al hospedero de patógenos, mantienen la barrera intestinal, modulan el sistema inmune y el metabolismo (J. Chen et al., 2021). *Bifidobacterium* en particular, es metaboliza los oligosacáridos de la leche humana para su crecimiento y mantenimiento (B. E. Heiss et al., 2021). Así, el amamantamiento exclusivo favorece la formación de una microbiota intestinal en equilibrio, contribuyendo significativamente al bienestar y al adecuado progreso del lactante en términos de salud y crecimiento.

2.3.2. Lactancia con Fórmula Infantil

La lactancia con fórmula infantil implica el uso de productos lácteos diseñados para sustituir parcial o totalmente la leche materna y proporcionar los nutrientes necesarios al lactante (Kouwenhoven et al., 2022). A pesar de que las fórmulas infantiles imitan en gran medida la composición de la leche materna, Almeida et al., (2021) señalan que existen diferencias en la composición y propiedades bioactivas que pueden afectar la estructura y función de la microbiota intestinal del lactante. Wang et al., (2015) sugieren que, en comparación con el amamantamiento exclusivo, la microbiota intestinal de los lactantes alimentados con fórmula presenta una menor proporción de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* y una mayor abundancia de bacterias pertenecientes a los filos

Firmicutes y Bacteroidetes, como los géneros *Clostridium*, *Streptococcus* y *Prevotella*.
Además, las fórmulas infantiles carecen de algunos HMO, componentes clave en la leche materna que actúan como prebióticos y favorecen el crecimiento de bacterias benéficas (Hegar et al., 2019). Aunque ya se comercializan fórmulas infantiles enriquecidas con oligosacáridos sintéticos y otros componentes bioactivos, para asemejarse más a la leche materna y su efecto en la microbiota intestinal, aún se desconoce hasta dónde igualan los beneficios proporcionados por la lactancia materna exclusiva (Saddki et al., 2022). Estas diferencias podrían tener implicaciones en la funcionalidad de la microbiota, así como en el desarrollo del sistema inmune, mayor susceptibilidad a enfermedades y condicionar la velocidad de crecimiento del lactante.

2.3.3. Lactancia Mixta

La lactancia mixta es una práctica en la que se combina la leche materna y la fórmula infantil en diversas proporciones (Ho, 2021). Ruddle (2021) explica que este régimen de alimentación puede adaptarse por diversas razones, como dificultades en la lactancia materna, producción insuficiente de leche, necesidades nutricionales específicas del lactante y también factores externos como la vida laboral de la madre. La lactancia mixta podría tener un impacto en la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal del lactante, aunque su efecto puede ser intermedio entre el amamantamiento exclusivo y la fórmula infantil (Davis et al., 2022).
La microbiota intestinal en infantes con lactancia mixta tiende a mostrar una menor presencia de bacterias benéficas, como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, en comparación con aquellos que reciben leche materna exclusiva, pero más que en los infantes alimentados solamente con fórmula infantil (Borewicz et al., 2019). A su vez, los lactantes con lactancia mixta pueden presentar una mayor proporción de bacterias pertenecientes a los filos Proteobacteria y Firmicutes, aunque en menor medida que en los lactantes alimentados exclusivamente con fórmula (Li et al., 2020). Esta diferencia podría explicarse dado que la lactancia mixta combina componentes de la leche materna y la fórmula infantil, los lactantes alimentados de esta manera aún pueden beneficiarse de algunos de los efectos prebióticos y probióticos de la leche materna, aunque en menor grado que con la lactancia materna exclusiva.

Algunos estudios, como los de Edwards et al., (2022), Fehr et al., (2020), y Guo et al., (2023), sugieren que la estructura de la microbiota intestinal en infantes con lactancia mixta podría verse afectadas por factores como la proporción de leche materna y fórmula, el momento de la introducción de la fórmula, y la composición específica de la fórmula utilizada. Es interesante destacar que los niños con lactancia mixta tienen un mayor riesgo de presentar un crecimiento infantil acelerado en comparación con aquellos que reciben solo fórmula infantil (Shinn et al., 2018). Es posible que la funcionalidad de la microbiota intestinal juegue un papel en este fenómeno.

2.3.4. Dieta Materna Durante el Amamantamiento

La dieta habitual de la madre afecta la composición de la leche materna, tanto en términos de nutrientes como de componentes bioactivos. Un estudio realizado por Ay et al., (2018) mostró que la suplementación con omega-3 incrementa los niveles de ácido eicosapentaenoico (EPA) y de ácido docosahexaenoico (DHA) en la leche materna y disminuye el porcentaje de grasas saturadas así como la relación omega-6/omega-3. El DHA es un componente estructural fundamental en las membranas del tejido cerebral y de la retina, y su biodisponibilidad en los lactantes depende principalmente del aporte exógeno (Demmelmair et al., 2018). Asimismo, reducir la ingestión de energía durante la lactancia contribuye a una disminución en el peso corporal materno, así como en las concentraciones de leptina, insulina y adiponectina en la leche materna, sin afectar la producción de leche. Este fenómeno sugiere un potencial impacto en el crecimiento y la adiposidad infantil. Además, mantener una dieta baja en grasas puede resultar en leche materna con un menor porcentaje de grasa saturada (Bravi et al., 2016). Estas evidencias subrayan cómo la atención consciente a la dieta materna puede influir en el perfil nutricional de la leche, favoreciendo la salud integral de madre e hijo, y su crecimiento.

2.3.5. Estado Nutricional Materno Durante el Amamantamiento

El estado nutricional de la madre también tiene un impacto significativo en la composición de la leche materna. Un estudio de Nagel et al., (2021) publicó que el índice de masa corporal (IMC) de la madre está correlacionado con la cantidad de lípidos en su leche. Específicamente, las madres con un IMC más alto tienden a producir leche con un mayor contenido de grasas saturadas. Además, otro estudio realizado por (Calvo-Lerma et al., 2022) reforzó estos hallazgos, indicando que las madres con sobrepeso u obesidad pueden tener una composición de leche materna alterada, lo que podría afectar la nutrición infantil y potencialmente la modulación de la microbiota infantil. Por lo tanto, el estado nutricional materno durante el amamantamiento podría tener implicaciones en la composición de la microbiota intestinal de los lactantes, y en última instancia, en su ritmo de crecimiento. Es importante recordar que las intervenciones nutricionales y el manejo del peso en las madres podrían ser estrategias claves para promover la salud óptima de los lactantes.

2.3.6. La Leche Materna en Constante Cambio para Beneficio del Niño

La leche materna es un alimento dinámico que se adapta a las necesidades del lactante a lo largo del tiempo. Su composición también varía en función de la edad del niño, y el momento del día, entre otros factores (Zhang et al., 2022). Durante los primeros días después del nacimiento, la madre produce calostro, que es rico en células inmunológicas y nutrientes esenciales para el recién nacido (Ayer et al., 2023). Posteriormente, la leche materna pasa por una etapa de transición y se madura (Karampatsas et al., 2022). A medida que el niño crece, sus necesidades calóricas aumentan, la leche materna sigue adaptándose a sus necesidades nutricionales. Al mismo tiempo, el contenido graso de la leche materna también se incrementa, proporcionando calorías y nutrientes esenciales para su crecimiento y desarrollo (Gila-Díaz et al., 2020). Además, la leche materna contiene linfocitos T, B y células Natural Killer, que varían en proporción a lo largo del tiempo y ayudan a madurar y fortalecer el sistema inmune del niño (Lokossou et al., 2022). Con estas adaptaciones naturales de la leche materna, se brinda al lactante un beneficio invaluable para su crecimiento y desarrollo óptimo

La leche materna también se adapta a las necesidades específicas del niño en función de su estado de salud. La proporción de anticuerpos en la leche materna aumenta ante una infección activa del lactante (Vizzari et al., 2021). Esto demuestra la capacidad de la leche materna para responder a las necesidades cambiantes del niño y proporcionar protección y apoyo inmunitario adecuado. Estas adaptaciones permiten satisfacer las necesidades nutricionales y de desarrollo del niño, así como proporcionar protección inmune y apoyo a su crecimiento y bienestar. Conocer estos cambios y adaptaciones en la leche materna es esencial para comprender cómo la lactancia materna contribuye al desarrollo saludable del niño.

2.4 Maduración de la Microbiota Intestinal del Infante

La maduración de la microbiota intestinal del lactante es un proceso complejo y dinámico que tiene lugar durante los primeros años de vida, y está influenciado por factores como la alimentación, el entorno y la genética (Beller et al., 2021). Como se mencionó previamente, la lactancia materna desempeña un papel central en la conformación de la microbiota intestinal, ya que proporciona un nicho ecológico único donde las bacterias se especializan en fermentar los HMO (Lawson et al., 2020). Conforme el lactante crece y se introducen alimentos complementarios, la microbiota intestinal experimenta cambios notables en su estructura y diversidad, adaptándose a las nuevas demandas nutricionales y metabólicas del niño (Differding, Benjamin-Neelon, et al., 2020; Differding, Doyon, et al., 2020). Esta diversificación, permite metabolizar una amplia variedad de nutrientes, como carbohidratos complejos, proteínas y grasas, y aumenta la presencia de bacterias anaerobias estrictas que producen AGCC, como el acetato, propionato y butirato (Dogra et al., 2021). Según Portincasa et al., (2022), estos AGCC desempeñan un papel importante en la modulación del sistema inmune y la función de la barrera intestinal.

La instauración de una microbiota intestinal equilibrada es esencial para el adecuado desarrollo y funcionamiento del sistema inmunitario y metabólico del lactante, con implicaciones a largo plazo en su salud y el bienestar (Wernroth et al., 2022). Según Dwivedi et al., (2021), a medida que el lactante crece, la microbiota intestinal se diversifica aún más y se asemeja cada vez más a la de un adulto, lo que aumenta su capacidad para desempeñar funciones de digestión. No obstante, factores

externos, como la exposición a antibióticos y la higiene, afectan la maduración de la microbiota intestinal, alterando su composición y su funcionalidad (Konstantinidis et al., 2020).

2.5. Crecimiento Infantil y Microbiota Intestinal

2.5.1. Crecimiento Óptimo

El crecimiento óptimo en la infancia es un indicador clave de la salud y el bienestar de un niño, y se encuentra estrechamente relacionado con factores nutricionales, genéticos y ambientales (Prentice, 2020). Según (Marume et al., 2022) es importante monitorear las curvas de crecimiento infantil, en relación con los estándares de crecimiento establecidos por la OMS, para proporcionar una evaluación adecuada del progreso en el crecimiento del lactante.

La microbiota intestinal juega un papel fundamental para alcanzar el crecimiento óptimo al favorecer la absorción y aprovechamiento de nutrientes (Durda-Masny et al., 2022). Además, una microbiota intestinal equilibrada y diversa, contribuye al crecimiento óptimo al promover la función de la barrera intestinal, y producir metabolitos beneficiosos (Robertson et al., 2019). Estos metabolitos influyen en la homeostasis energética, la función del sistema inmune y la diferenciación celular, que en conjunto facilitan un crecimiento adecuado y saludable (Romaní-Pérez et al., 2021). Diferentes estudios han encontrado asociación entre una microbiota intestinal equilibrada y un crecimiento óptimo en la infancia (Durda-Masny et al., 2022; Nguyen et al., 2019). Por lo tanto, es esencial promover una microbiota intestinal saludable en los lactantes a través de prácticas adecuadas de alimentación. Para esto, es requisito previo tipificar la problemática en cada población particular.

2.5.2. Crecimiento Acelerado

El crecimiento infantil acelerado se define como el aumento en la velocidad del crecimiento que

excede las 0.67 desviaciones estándar en un período determinado, medido como un cambio en el puntaje-z de peso para la edad (Halilagic y Moschonis, 2021). Este fenómeno puede ocurrir en respuesta a la recuperación de un período de retraso en el crecimiento o como resultado del exceso en la ingestión de nutrientes y energía (Shin, 2019). La microbiota intestinal podría estar relacionada con el crecimiento acelerado. Como se mencionó previamente, influye positivamente en la absorción de nutrientes y la regulación del metabolismo energético, cuando se encuentra en equilibrio; en disbiosis, su efecto podría ser negativo, acelerando el crecimiento.

El crecimiento acelerado se ha vinculado a un mayor riesgo de desarrollar obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares en etapas posteriores de la vida (Trabulsi et al., 2020). La microbiota intestinal podría desempeñar un papel importante en la predisposición a estas condiciones, ya que modula procesos metabólicos e interactúa con el sistema inmunitario (Campbell et al., 2023). Por ejemplo, según (Heiss y Olofsson, 2018), una composición alterada de la microbiota intestinal podría favorecer una mayor extracción de energía de los alimentos y provocar inflamación sistémica de bajo grado, lo que contribuye al desarrollo de la obesidad y enfermedades metabólicas asociadas. Por lo tanto, prevenir el crecimiento acelerado en la infancia, es fundamental para reducir el riesgo de complicaciones de salud a largo plazo.

Un papel clave en la prevención del crecimiento acelerado y sus consecuencias adversas en la salud, podría ser el fomento de una microbiota intestinal saludable y equilibrada. Esto, se lograría mediante buenas prácticas de alimentación y cuidado, como la lactancia materna y la introducción adecuada de alimentos complementarios. Además, la identificación temprana de lactantes en riesgo y la implementación de intervenciones enfocadas en mejorar la microbiota intestinal podrían ser estrategias prometedoras para abordar este problema de salud pública en cualquier población del mundo.

3. HIPÓTESIS

El amamantamiento exclusivo durante los primeros 6 meses de vida, modula mejor que la lactancia mixta la composición de la microbiota intestinal, favoreciendo la abundancia de bacterias ácido-lácticas, con efecto positivo en la velocidad de crecimiento infantil al menos hasta los 12 meses de vida.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Comparar el efecto del amamantamiento exclusivo con el de lactancia mixta, durante los primeros 6 meses, sobre la composición de microbiota y analizar su efecto en la velocidad de crecimiento infantil a los 12 meses de vida.

4.2. Objetivos Particulares

- Evaluar velocidad de crecimiento en los infantes desde 6 hasta 12 meses de vida, utilizando los estándares de la OMS con el programa Anthro.
- Comparar la composición de la microbiota fecal a los 6 meses de vida, en cuanto a los géneros *Prevotella*, *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, mediante qPCR, entre infantes amamantados en exclusiva y aquellos con alimentación mixta.
- Analizar la relación entre la composición de la microbiota fecal a los 6 meses y la velocidad de crecimiento, de los niños participantes, en su segundo semestre de vida.

5. PARTICIPANTES Y MÉTODOS

5.1 Participantes

Se incluyeron niños cuya alimentación durante al menos los primeros 6 meses postparto fuera tanto lactancia materna exclusiva, como alimentación mixta (lactancia materna y fórmula infantil). Se invitó a las madres a participar en visitas a organizaciones civiles de apoyo al amamantamiento y estancias infantiles, así como a través de redes sociales. Se incluyeron niños sanos, con una edad comprendida entre los 180 y 200 días desde su nacimiento, cuyas madres llevaron un control prenatal adecuado y residían en Sonora, al menos los últimos tres años. Se excluyeron aquellos niños que nacieron pre-término, con bajo o alto peso, que recibieron tratamiento con antibióticos o que se les hubieran dado alimentos distintos a la leche humana o a la fórmula infantil, al tiempo del estudio. Así también, se excluyeron niños cuya madre hubiera presentado diabetes gestacional o padeciera diabetes tipo 2, preeclamsia, enfermedades infecciosas o inmunitarias, que hubiera estado bajo tratamiento farmacológico o recibido antibióticos durante el período de lactancia, o que usara drogas, alcohol o fumara. Antes de su implementación, el protocolo fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación de CIAD A.C. Se aplicó un cuestionario de inclusión/exclusión vía telefónica a las madres que se interesaron en participar, con los criterios antes descritos. Si cumplían con los criterios de inclusión, se programó una visita en su hogar, para describirles el estudio, invitarlas y recabar firma de consentimiento informado. En esa primera visita, así mismo se aplicaron cuestionarios sociodemográficos y de salud, mediciones antropométricas a la diada y cuando fue posible, colecta de muestras de heces del lactante. En algunos casos, se colectaron en visitas posteriores.

5.2. Datos Demográficos y de Salud

Se aplicó un cuestionario a la madre para recabar información tanto de ella como de su hijo, con

datos de edad, nivel educativo, origen de la madre y los abuelos, datos de salud; como uso de fármacos y enfermedades previas, peso y longitud al nacer, peso pregestacional y posparto de la madre.

5.3. Datos Antropométricos

Se tomaron medidas antropométricas tanto de las madres como de los lactantes en dos ocasiones, inicialmente entre los 5 y 6 meses después del parto, y finalmente solo al infante, al alcanzar los 12 meses de edad. La longitud del infante se registró utilizando un infantómetro portátil Seca, modelo 210. Asimismo, su peso se tomó con un infantómetro electrónico portátil de la misma marca, modelo 334. Para la madre, se midió su peso y estatura con una báscula de plataforma A&D, modelo FG-150KBM, y un estadiómetro portátil Seca, modelo 213, respectivamente. Cada una de las mediciones fue realizada dos veces por el mismo evaluador, con el propósito de minimizar los sesgos en la toma de datos.

A partir del peso, la talla y la edad de los infantes, se calcularon los puntaje-z de talla para la edad (LAZ) peso para la talla (WLZ) y peso para la edad (WAZ) tanto a los 6 meses como a los 12 meses de edad. La "velocidad de crecimiento" se calculó con la diferencia entre el WAZ a los 12 meses y el WAZ a los 6 meses después del parto, utilizando el programa Anthro-2005, de acuerdo con los estándares de crecimiento infantil propuestos por la OMS. Así, resultan tres categorías de crecimiento; lento, con diferencia menor a 0.67 desviaciones estándar (DE) ($\Delta WAZ < -0.67$); entre -0.67 y 0.67 DE se considera crecimiento óptimo; y una diferencia mayor a 0.67 DE se denomina crecimiento acelerado (Onis, 2007).

5.4. Análisis de la Microbiota

Se recolectaron muestras de heces de los infantes y se transportaron al laboratorio a 4ºC para su posterior análisis. Las muestras se homogeneizaron y una alícuota se almacenó a -70°C hasta la

extracción del ADN genómico usando el juego comercial de reactivos QIAGEN, el QIAamp® FAST DNA Stool Mini Kit (Alemania). La extracción se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante, incluyendo la homogeneización de la muestra, la lisis celular y el aislamiento del ADN. La concentración y pureza del ADN extraído se evaluaron en un espectrofotómetro NanoDrop™ 2000. Posteriormente, se cuantificó el ADN bacteriano total y de los géneros especificados en la cuadro 1 mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) utilizando el equipo StepOnePlus™ Real-Time PCR System. Cada reacción de qPCR incluyó: 10 µL de SYBRGreen Supermix (Bio-Rad Laboratories, California, Estados Unidos), 0.5 µL de cada iniciador, 1 µL de la muestra de ADN diluida a 20 ng/µL y H_2O milli-Q estéril hasta un volumen total de reacción de 20 µL. Los iniciadores utilizados fueron específicos para cada género bacteriano de interés y sus secuencias se detallan en el cuadro 1. Se realizó un duplicado de cada muestra para garantizar la precisión y reproducibilidad de los resultados obtenidos.

Las condiciones de reacción para bacterias totales fueron las previamente descritas (Mejía-León et al., 2018). Para el resto de los géneros bacterianos analizados, incluyeron una desnaturalización inicial a 95ºC durante 10 min, seguida de 40 ciclos de 95ºC durante 15 seg. y 60 seg. a la temperatura de alineamiento correspondiente. Para verificar la especificidad de la amplificación, se corrió una curva de disociación con incrementos de +0.3ºC.

Cuadro 1. Iniciadores utilizados en la detección de géneros bacterianos.

Iniciador	Secuencia	T.A.	Referencia
AM1	CAGCACGTGAAGGTGGGGAC	65°C	(Collado et al., 2007)
AM2	CCTTGCGGTTGGCTTCAGAT		
F-Bifido	CGCGTCYGGTGTGAAAG	62°C	(Delroisse et al., 2008)
R- Bifido	CCCCACATCCAGCATCCA		
F-lacto	GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC	62°C	(Delroisse et al., 2008)
R-lacto	GGCCAGTTACTACCTCTATCCTTCTTC		
PreGen4F	GGTTCTGAGAGGAAGGTCCCC	59°C	(Stevenson y Weimer, 2007)
PreGen4R	TCCTGCACGCTACTTGGCTG		
BacDF	AAGGTCCCCCACATTGG	58°C	(Manz et al., 1996) (Franks et al., 1998)
BacDR	GAGCCGCAAACTTTCACAA		
HDA-1	ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT	60°C	(Walter et al., 2000)
HDA-2	GTATTACCGCGGCTGCTGGCAC		

AM: *Akkermansia*; **Bifido**: *Bifidobacterium*; **lacto**: *Lactobacillus*; **PreGen4**: *Prevotella*; **BacD**: *Bacteroides*; **HDA**: bacterias totales. Las letras **F** y **R** significan forward y reverse; T.A. Tiempo de Alineamiento

Los resultados se calcularon como índices entre los valores encontrados para cada género o especie en heces de niños con régimen mixto (MIX), entre aquellos con amamantamiento exclusivo (AMAM). Este, se calculó con Log10 de $2^{-\Delta\Delta Ct}$, utilizando la diferencia entre el Ct de la bacteria en ensayo, menos el de bacterias totales (ΔCt). Después se calculó el ΔΔCt como la diferencia entre el ΔCt de los infantes con lactancia mixta y el ΔCt de aquellos con amamantamiento exclusivo. Un valor positivo del índice MIX/AMAM, indica el número de veces que es mayor la abundancia de un determinado género bacteriano en los infantes con lactancia mixta en comparación con los amamantados en exclusiva.

5.5. Análisis Estadístico

Se describieron las características generales basales de los grupos de amamantamiento exclusivo y lactancia mixta, mediante estadística descriptiva utilizando el programa NCSS 2021. Las variables numéricas se presentaron como media y error estándar, mientras que las variables categóricas se expresaron como porcentajes. Posteriormente, se compararon ambos grupos mediante una prueba de t de Student para muestras independientes, con un intervalo de confianza del 95%, y una prueba de chi-cuadrada ($\chi 2$). En ambas pruebas, se consideró un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

Para evaluar el impacto del régimen de lactancia en la composición de la microbiota en los primeros 6 meses de vida y su influencia en los cambios en la velocidad del crecimiento a los 12 meses de edad, se hizo un análisis de regresión lineal múltiple. Esto permitió examinar la relación entre las variables predictoras (tipo de lactancia) y la variable dependiente (velocidad de crecimiento). Para la regresión lineal múltiple se utilizó el paquete estadístico STATA 17.

En el modelo de regresión, el tipo de lactancia se trató como una variable independiente y la velocidad de crecimiento se consideró como la variable dependiente. Se incluyeron otras covariables relevantes, como características sociodemográficas y factores de confusión potenciales, para controlar su influencia en los resultados. Las covariables fueron seleccionadas en base a lo publicado por otros autores en estudios previos.

Se verificó previamente la adecuación del modelo mediante la comprobación de supuestos, como la linealidad, la normalidad de los residuos y la ausencia de multicolinealidad. Además, se evaluó

la presencia de posibles interacciones entre las variables predictoras. Se calcularon los coeficientes de regresión para evaluar la magnitud y la dirección de la asociación entre las variables predictoras y la velocidad de crecimiento. Además, se calcularon los valores de p correspondientes para determinar la significancia estadística de los coeficientes de regresión.

Finalmente, se interpretaron los resultados de la regresión lineal múltiple para evaluar la influencia del régimen de lactancia en la velocidad de crecimiento infantil a los 12 meses de vida, teniendo en cuenta los ajustes por covariables.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Características Demográficas y Perinatales de los Participantes

En este estudio, se invitó a participar a un total de 51 madres, de las cuales 36 aceptaron y cumplieron con los criterios de inclusión. Los datos obtenidos fueron demográficos, perinatales y de salud, además de la información referente al régimen de lactancia practicada. De acuerdo a esta última variable, dividimos la muestra en dos grupos, amamantamiento exclusivo (AMAM, n=16) y lactancia mixta (MIX, n=20).

Al realizar una comparación integral entre los grupos de AMAM y MIX (Cuadro 2), las características demográficas y maternas fueron notablemente similares entre ambos grupos de estudio. Por esto, se puede inferir que las condiciones maternas no afectaron los resultados encontrados en los niños. En cuanto a las características perinatales, tampoco hubo diferencia en distintas variables como la duración de la gestación, el tipo de parto, si el infante era primogénito o no, y el momento y forma de inicio de la lactancia. Así, la homogeneidad de las características maternas y perinatales, fortalece la validez de la comparación directa de los resultados obtenidos en cada grupo.

Las características de los recién nacidos, incluyendo peso, longitud, y puntajes-Z para peso para la talla y peso para la edad, tampoco presentaron diferencias significativas. Esto, es relevante pues indica que las diferencias encontradas posteriormente, no son atribuibles a factores perinatales sino que están probablemente ligadas a los regímenes de lactancia implementados después del nacimiento, así como a su influencia sobre la composición de la microbiota intestinal de los infantes.

Cuadro 2. Características generales y perinatales de los participantes

Variables maternas	**AMAM** (n=16)	**MIX** (n=20)	**Valor-p**
Edad materna, años	31.0 (0.8)	31.5 (1.3)	
Último nivel educativo			
Preparatoria, %	8.3	16.7	
Licenciatura, %	58.6	66.7	0.587
Posgrado, %	33.3	16.7	
Peso pregestacional, kg	62.8 (4.5)	63 (3.0)	0.964
Ganancia de peso durante el embarazo, kg	11.8 (1.8)	12.2 (1.1)	0.850
Peso actual, kg	66.2 (4.4)	75.5 (1.6)	0.064
Talla actual, cm	1.64 (0.1)	1.68 (0.1)	0.322
IMC materno, kg/m^2	25.1 (1.2)	26.7 (0.7)	0.268
Variables del lactante			
Sexo del bebé, femenino, %	52.9 %	45.0 %	0.630
Tipo de parto, vaginal, %	41.2 %	40.0 %	0.942
Primogenito, %	47.1 %	45 %	0.903
Gestación, semana	38.9 (0.4)	39.2 (0.3)	0.538
Peso al nacer, kg	3.1 (0.1)	3.2 (0.1)	0.719
Talla al nacer, cm	49.9 (0.4)	50.2 (0.4)	0.605
Peso/talla al nacer, puntaje-z	-0.5 (0.3)	-0.6 (0.3)	0.939
Peso/edad al nacer, puntaje-z	-0.2 (0.2)	-0.1 (0.1)	0.817
Talla/edad al nacer, puntaje-z	0.2 (0.2)	0.3 (0.2)	0.761

Los datos se presentan como media (error estándar) y porcentaje.

6.2. Lactancia y Crecimiento: Impacto a los 6 y 12 Meses

Al analizar los indicadores de crecimiento a los 6 meses (Cuadro 3), los lactantes en el grupo de lactancia mixta presentaron un peso significativamente mayor ($p<0.05$) y un puntaje-z de peso/talla y peso/edad más elevados ($p<0.05$) que los de amamantamiento exclusivo. Estos resultados coinciden con los de estudios en donde la lactancia mixta, influyó acelerando la ganancia de peso en los primeros meses de vida. Además, los autores encontraron niveles circulantes de factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) e insulina más bajos en niños amamantados en exclusiva, comparado con los de lactancia mixta (Lind et al., 2018). Sin embargo, es importante destacar que estas diferencias no se tradujeron en mayor longitud a los 6 meses, lo que sugiere que la lactancia mixta puede influir sobre los patrones de ganancia de peso, pero no en la talla de los lactantes. Esta,

podría ser una de las explicaciones del sobrepeso posterior en los niños con menos amamantamiento (Mantzorou et al., 2022).

Cuadro 3. Mediciones y puntajes-z en el crecimiento infantil a los 5-6 y 12 meses (n=36)

Mediciones a los 5-6 meses	**AMAM** (n=16)	**MIX** (n=20)	**Valor-p**
Peso, kg	7.5 (0.2)	8.6 (0.2)	**0.002**
Longitud, cm	64.8 (0.5)	66.2 (0.5)	0.068
Peso para la talla, puntaje-z	0.6 (0.1)	1.2 (0.1)	**0.033**
Peso para la edad, puntaje-z	0.1 (0.2)	1.1 (0.2)	**0.019**
Talla para la edad, puntaje-z	-0.3 (0.3)	0.4 (0.2)	0.063
Mediciones a los 12 meses			
Peso, kg	9.4 (0.2)	11.1 (0.3)	**0.000**
Longitud, cm	74.8 (0.9)	77.1 (0.6)	0.051
Peso para la talla, puntaje-z	0.1 (0.1)	1.5 (0.1)	**0.000**
Peso para la edad, puntaje-z	0.0 (0.2)	1.7 (0.2)	**0.000**
Talla para la edad, puntaje-z	0.2 (0.3)	0.4 (0.2)	0.076

Los datos se presentan como media (error estándar).

A los 12 meses de edad, se mantuvieron las mismas tendencias que a los 6 meses, con los niños de lactancia mixta mostrando un puntaje-z de peso para la talla y peso para la edad superior ($p<0.05$) al de los amamantados en exclusiva. Esto, reafirma la posible relación entre el régimen de lactancia y los cambios en la velocidad de crecimiento infantil. Estos hallazgos se complementan con los de otro estudio donde se publicó una asociación inversa entre la lactancia materna y la velocidad de crecimiento en los niños. Estas asociaciones se vieron parcialmente afectadas en los niños alimentados con leche materna extraída y se debilitaron sustancialmente con la introducción de fórmula infantil, después del período neonatal (Azad et al., 2018).

6.3. Crecimiento Acelerado: Riesgo en Lactancia Mixta

Nuestra investigación, permitió identificar velocidad de crecimiento infantil diferencial entre los

niños en cada uno de los dos regímenes de lactancia analizados (Figura 1). Los niños sujetos a lactancia mixta experimentaron una aceleración en su crecimiento, reflejado en un ΔWAZ de 0.72 DE, excediendo el umbral superior de 0.67 DE. Por otro lado, los niños que fueron amamantados de manera exclusiva, exhibieron un ΔWAZ de -0.23 DE, situándose dentro del rango óptimo de crecimiento. Es crucial destacar que un crecimiento acelerado en la infancia, como el evidenciado en el grupo de lactancia mixta, se ha vinculado con incremento en el riesgo de sobrepeso, obesidad, hipertensión y enfermedades crónicas, en etapas posteriores de la vida (Arini et al., 2022). Estos resultados aportan evidencia adicional a favor de los beneficios a largo plazo de la lactancia materna exclusiva para el desarrollo saludable del infante.

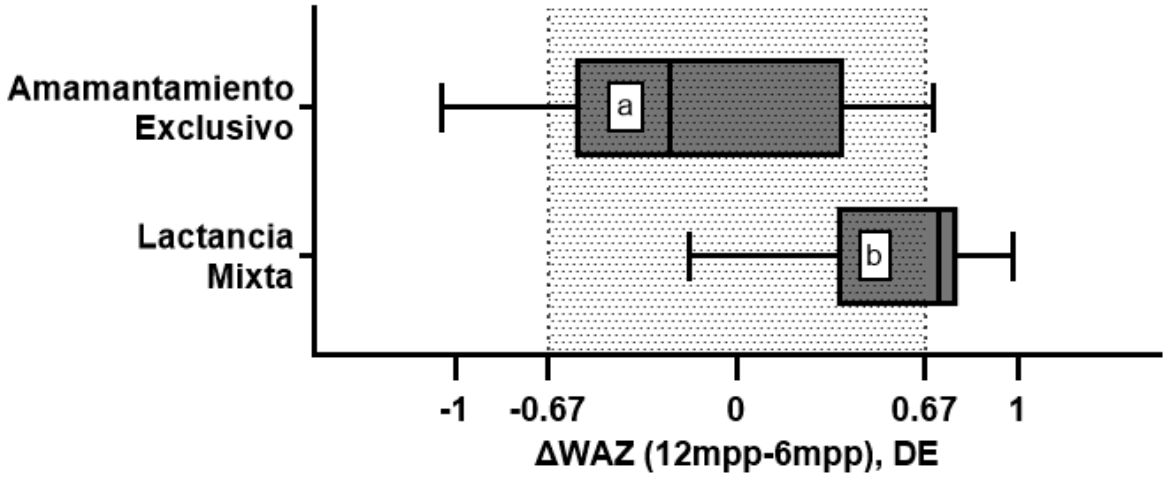


Figura 1. Cambios en la velocidad de crecimiento por grupo de lactancia.
Mpp: meses posparto; Literales diferentes muestran diferencias significativas ($p<0.05$)

6.4. Géneros y Especies en la Microbiota Fecal de los Lactantes

Los hallazgos más destacables, que además respaldan nuestra hipótesis inicial, se centran en la composición de algunos géneros y especies de la microbiota fecal, en ambos grupos de lactantes (Figura 2).

En particular, los niños con velocidad de crecimiento óptima, es decir, aquellos amamantados en

exclusiva, presentaron una mayor abundancia de *Bifidobacterium* con respecto a los niños con lactancia mixta. Esta proliferación se pudiera atribuir a los oligosacáridos presentes en la leche materna, los cuales se suministran de manera natural y difieren de los de las fórmulas infantiles (Bührer et al., 2022). Los oligosacáridos son fermentados en el intestino por bacterias beneficiosas, como es el caso de *Bifidobacterium*, lo cual fomenta su proliferación. Este género se ha asociado negativamente con obesidad visceral y positivamente con la regulación de la salud metabólica, promoviendo la homeostasis energética y posiblemente protegiendo contra el aumento de la velocidad de crecimiento infantil (Burakova et al., 2022).

A pesar de que el 95% de los niños del grupo MIX fueron alimentados con fórmulas que contienen oligosacáridos sintéticos, *Bifidobacterium* no se vio beneficiado. Todavía no está claro hasta qué punto los oligosacáridos de la leche humana pueden ser equiparados por los oligosacáridos sintéticos de las fórmulas infantiles. Por tanto, es necesario continuar investigando la composición de las fórmulas infantiles y su impacto en la microbiota intestinal y la salud de los niños.

Curiosamente, no se encontraron diferencias en la abundancia de *Lactobacillus*, otro género de bacterias ácido-lácticas, entre los niños amamantados en exclusiva y aquellos con lactancia mixta ($p>0.05$). Aunque *Lactobacillus* puede fermentar oligosacáridos y otros azúcares como la lactosa, este género es notablemente adaptable y puede prosperar en una variedad de condiciones nutricionales. Kuratsu et al., (2010), afirman que este género tiene mutaciones en algunas rutas metabólicas primarias y requieren medios ricos en aminoácidos y nucleobases para su crecimiento. Además, *Lactobacillus* es el género más abundante en la microbiota vaginal y es transmitido durante el parto, lo que ayuda a establecer la colonización temprana en el intestino del infante independientemente de la alimentación (X. Chen et al., 2021). Estos factores podrían explicar los resultados de nuestro estudio, sin diferencia en este género debidas al régimen de lactancia. Tampoco Wang et al., (2020) encontraron diferencias significativas de abundancia de *Lactobacillus* entre regímenes de de lactancia distintos.

Por otra parte, los niños con lactancia mixta, que mostraron un crecimiento acelerado, evidenciaron una maduración temprana de su microbiota intestinal. Su microbiota fecal, presentó mayor diversidad bacteriana y un incremento en la presencia de *Prevotella* y *Bacteroides*. La proliferación de dichos géneros, en particular *Prevotella*, pudiera estar asociada al contenido de almidón y maltodextrinas en las fórmulas infantiles, ya que el 95% de las fórmulas consumidas por los lactantes en el régimen mixto, contienen estos compuestos.

En otros estudios en niños sonorenses, principalmente en edad escolar, se ha publicado que *Prevotella* es el género dominante y la dieta es alta en consumo de carbohidratos (Calderón de la Barca et al., 2020; María Esther Mejía-León et al., 2014). Respecto a *Bacteroides*, como en otros estudios, en los de nuestro grupo de trabajo, su acumulación se asocia a la microbiota de escolares con diabetes tipo 1 o enfermedad celiaca activas. Además, otros autores, lo relacionan a dietas altas en proteína (Bartlett y Kleiner, 2022), y las fórmulas infantiles tienen concentración de proteína más alta que la leche humana (Chong et al., 2022).

Numerosos estudios, como los realizados por Cussotto et al., (2020), Dong et al., (2022), y Groer et al., (2018), han confirmado que mayor proliferación de los géneros bacterianos *Prevotella* y *Bacteroides*, se relaciona inversamente con los niveles de triptófano sérico, un metabolito crucial para la síntesis de serotonina, que promueve la sensación de saciedad. Estos resultados sugieren que el amamantamiento exclusivo ejerce un impacto positivo en la composición de la microbiota intestinal, favoreciendo una velocidad de crecimiento óptima durante el primer año de vida. Esto podría tener implicaciones importantes para la salud a largo plazo.

Respecto a *Akkermansia*, no se encontraron diferencias entre el grupo de AMAM y el de MIX. Aunque *Akkermansia* tiene una función crítica en la salud intestinal por su capacidad para degradar la mucina, una proteína clave en el moco intestinal (Kim et al., 2021), la abundancia de este género podría no estar directamente influenciada por la dieta en los lactantes. *Akkermansia* es un colonizador temprano del intestino y su establecimiento podría ser más dependiente de la madurez intestinal y otros factores individuales (Aggarwal et al., 2022). Esta hipótesis está respaldada por otros estudios como el de M. Wang et al., (2015), que no encontraron diferencias en la abundancia de *Akkermansia* entre grupos con distintos regímenes de lactancia.

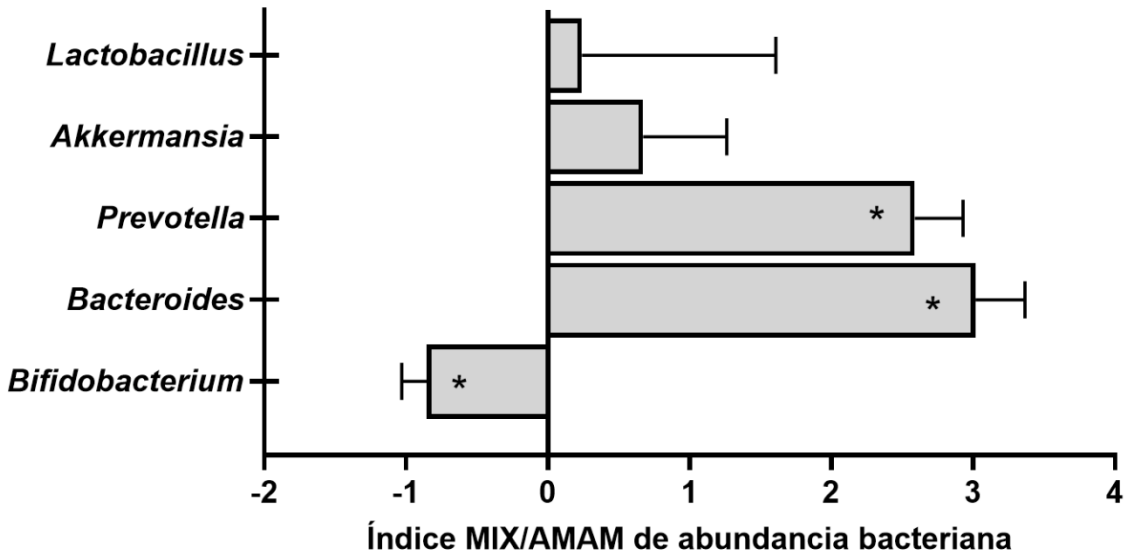


Figura 2. Comparativa de microbiota intestinal entre régimen de lactancia (n=24).
Grupo de referencia: Amamantamiento Exclusivo (AMAM). *Diferencias significativas entre lactancia mixta (MIX) vs referencia ($p<0.05$)

6.5. Factores Predictores de Crecimiento Acelerado

Es importante conocer los factores que influyen sobre la modulación de la velocidad de crecimiento. El análisis de regresión múltiple arrojó resultados claros en términos de factores asociados con estos cambios de velocidad (Cuadro 4). Por un lado, la aparición temprana de *Prevotella* en la microbiota intestinal, se asoció con un mayor ΔWAZ, evidenciando ser un factor de riesgo con un coeficiente de 0.09 ($p<0.001$). Por su parte, la abundancia de *Bifidobacterium* presentó una relación negativa, actuando como un factor protector contra el crecimiento acelerado, con un coeficiente de -0.50 ($p<0.001$). Estos hallazgos reafirman que la mayor presencia de *Bifidobacterium* en los niños amamantados en exclusiva, podrían modular su velocidad de crecimiento.

El peso materno también ha demostrado ser un factor significativo en el estudio, ya que por cada kilogramo adicional de peso de la madre, su hijo experimenta un incremento de 0.01 DE en ΔWAZ ($\beta=0.01$, $p=0.004$). Esta asociación positiva sugiere que un mayor peso materno, puede tener influencia en el incremento de la velocidad de crecimiento del niño, posiblemente debido a una mayor transferencia de calorías durante el amamantamiento. Según Daniel et al., (2021), el estado

nutricional materno se relaciona positivamente con la cantidad de grasa saturada presente su leche, lo que explica la asociación entre el peso materno y la velocidad de ganancia de peso de su hijo, además del factor genético que también tiene su participación (Loos y Yeo, 2022).

Cuadro 4. Variables predictoras de velocidad de crecimiento (n=24)

	β	**Valor-p**
Prevotella, índice MIX/AMAM	0.09	0.000
Bifidobacterium, índice MIX/AMAM	-0.50	0.000
Peso materno, kg	0.01	0.004
Sexo, masculino	0.16	0.025

Variable de respuesta: ΔWAZ entre los 6 y 12 meses posparto

Por último, el sexo del niño también fue un predictor significativo, con los niños varones mostrando un aumento en el ΔWAZ (β=0.16, p=0.025). Este hallazgo sugiere que el sexo puede desempeñar un papel en la velocidad de crecimiento durante el primer año de vida, con los varones mostrando un crecimiento acelerado en comparación con las niñas. Sin embargo, se requiere más investigación para comprender completamente el papel del sexo en el crecimiento durante el primer año de vida y sus implicaciones a largo plazo para la salud y el desarrollo infantil.

7. CONCLUSIÓN

Los resultados sugieren que la lactancia mixta promueve la maduración temprana de la microbiota intestinal y acelera la velocidad de crecimiento infantil. De acuerdo con nuestros hallazgos, se confirma parcialmente nuestra hipótesis: el amamantamiento exclusivo durante los primeros 6 meses de vida favorece la abundancia de bacterias ácido-lácticas en comparación con la lactancia mixta; que se cumplió para *Bifidobacterium*, pero no para *Lactobacillus*. Así mismo, *Bifidobacterium*, una de las bacterias ácido-lácticas, influenció positivamente la velocidad de crecimiento infantil hasta los 12 meses de vida, como se hipotetizó.

Estos hallazgos ponen de relieve el papel clave que juegan las prácticas de lactancia en la modulación de la microbiota intestinal y, en consecuencia, en el crecimiento infantil durante el primer año de vida. Además, se han identificado aspectos que podrían ser objeto de futuros estudios. En particular, sería de interés explorar en profundidad cómo estas diferencias en la composición de la microbiota pueden influir en la funcionalidad de la misma, y su relación con la producción de hormonas reguladoras de apetito y saciedad.

Este estudio presenta algunas limitaciones. Por ejemplo, no se evaluó el volumen de ingestión de leche y el consumo calórico entre ambos grupos de lactantes, ni se contó con las secuencias del gen 16S ribosomal de la microbiota, para hacer inferencias más sólidas sobre los mecanismos subyacentes que podrían influir en los patrones de ganancia de peso.

En conclusión, este estudio aporta nueva evidencia sobre el impacto diferencial de la lactancia exclusiva y mixta en la composición de la microbiota y en el crecimiento durante el primer año de vida, aportando una pieza más al complejo rompecabezas de la influencia del inicio de la alimentación en la salud infantil. Creemos que nuestros resultados pueden ser de utilidad para orientar políticas de salud pública y acciones de promoción de la salud en torno a la lactancia materna y su papel en la salud infantil.

8. REFERENCIAS

Aggarwal, V., Sunder, S. & Verma, S. R. (2022). Disease-associated dysbiosis and potential therapeutic role of Akkermansia muciniphila, a mucus degrading bacteria of gut microbiome. *Folia Microbiologica*, *67*(6), 811–824. https://doi.org/10.1007/s12223-022-00973-6.

Ahearn-Ford, S., Berrington, J. E. & Stewart, C. J. (2022). Development of the gut microbiome in early life. *Experimental Physiology*, *107*(5), 415–421. https://doi.org/10.1113/EP089919.

Almeida, C. C., Mendonça Pereira, B. F., Leandro, K. C., Costa, M. P., Spisso, B. F. & Conte-Junior, C. A. (2021). Bioactive compounds in infant formula and their effects on infant nutrition and health: a systematic literature review. *International Journal of Food Science*, *2021*, 1–31. https://doi.org/10.1155/2021/8850080.

Arini, F. A., Achadi, E. & Besral, B. (2022). Rapid growth in malnutrition children associated with higher systolic blood pressure in adolescent. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *10*(T8), 91–96. https://doi.org/10.3889/OAMJMS.2022.9492.

Ay, E., Büyükuslu, N., Batırel, S., İlktaç, H. Y. & Garipağaoğlu, M. (2018). The effects of maternal omega-3 fatty acid supplementation on breast milk fatty acid composition. *ACTA Pharmaceutica Sciencia*, *56*(2), 27. https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.05609.

Ayer, Ç., Şeker-Ari, P. E. & Sagdicoglu-Celep, G. (2023). A brief overview: breast milk colostrum bioactives. *Journal of Gazi University Health Sciences Institute*, *5*(1), 49–58. https://doi.org/10.59124/guhes.1217060.

Azad, M. B., Vehling, L., Chan, D., Klopp, A., Nickel, N. C., McGavock, J. M., Becker, A. B., Mandhane, P. J., Turvey, S. E., Moraes, T. J., Taylor, M. S., Lefebvre, D. L., Sears, M. R. & Subbarao, P. (2018). Infant feeding and weight gain: separating breast milk from breastfeeding and formula from food. *Pediatrics*, *142*(4). https://doi.org/10.1542/peds.2018-1092.

Bartlett, A. & Kleiner, M. (2022). Dietary protein and the intestinal microbiota: an understudied relationship. *iScience*, *25*(11), 105313. https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105313.

Beller, L., Deboutte, W., Falony, G., Vieira-Silva, S., Tito, R. Y., Valles-Colomer, M., Rymenans, L., Jansen, D., Van Espen, L., Papadaki, M. I., Shi, C., Yinda, C. K., Zeller, M., Faust, K., Van Ranst, M., Raes, J. & Matthijnssens, J. (2021). Successional stages in infant gut microbiota maturation. *mBio*, *12*(6). https://doi.org/10.1128/mbio.01857-21.

Borewicz, K., Suarez-Diez, M., Hechler, C., Beijers, R., de Weerth, C., Arts, I., Penders, J., Thijs, C., Nauta, A., Lindner, C., Van Leusen, E., Vaughan, E. E. & Smidt, H. (2019). The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life. *Scientific Reports*, *9*(1), 2434. https://doi.org/10.1038/s41598-018-38268-x.

Boudry, G., Charton, E., Le Huerou-Luron, I., Ferret-Bernard, S., Le Gall, S., Even, S. & Blat, S. (2021). The relationship between breast milk components and the infant gut microbiota. *Frontiers in Nutrition*, *8*. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.629740.

Bravi, F., Wiens, F., Decarli, A., Dal Pont, A., Agostoni, C. & Ferraroni, M. (2016). Impact of

maternal nutrition on breast-milk composition: a systematic review,. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *104*(3), 646–662. https://doi.org/10.3945/ajcn.115.120881.

Bührer, C., Ensenauer, R., Jochum, F., Kalhoff, H., Koletzko, B., Lawrenz, B., Mihatsch, W., Posovszky, C. & Rudloff, S. (2022). Infant formulas with synthetic oligosaccharides and respective marketing practices: position statement of the german society for child and adolescent medicine. *Molecular and Cellular Pediatrics*, *9*(1), 14. https://doi.org/10.1186/s40348-022-00146-y.

Burakova, I., Smirnova, Y., Gryaznova, M., Syromyatnikov, M., Chizhkov, P., Popov, E. & Popov, V. (2022). The effect of short-term consumption of lactic acid bacteria on the gut microbiota in obese people. *Nutrients*, *14*(16), 3384. https://doi.org/10.3390/nu14163384.

Calderón de la Barca, A. M., Castillo-Fimbres, R. S., Mejía-León, M. E., Quihui-Cota, L., Ochoa-Leyva, A. & Aguayo-Patrón, S. V. (2020). Enteric parasitic infection disturbs bacterial structure in Mexican children with autoantibodies for type 1 diabetes and/or celiac disease. *Gut Pathogens*, *12*(1), 37. https://doi.org/10.1186/s13099-020-00376-3.

Calvo-Barreiro, L., Zhang, L., Abdel-Rahman, S. A., Naik, S. P. & Gabr, M. (2023). Gut microbial-derived metabolites as immune modulators of T helper 17 and regulatory T cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(2), 1806. https://doi.org/10.3390/ijms24021806.

Calvo-Lerma, J., Selma-Royo, M., Hervas, D., Yang, B., Intonen, L., González, S., Martínez-Costa, C., Linderborg, K. M. & Collado, M. C. (2022). Breast milk lipidome is associated with maternal diet and infants' growth. *Frontiers in Nutrition*, *9*. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.854786.

Campbell, C., Kandalgaonkar, M. R., Golonka, R. M., Yeoh, B. S., Vijay-Kumar, M. & Saha, P. (2023). Crosstalk between gut microbiota and host immunity: impact on inflammation and immunotherapy. *Biomedicines*, *11*(2), 294. https://doi.org/10.3390/biomedicines11020294.

Celis, A. I. & Relman, D. A. (2020). Competitors versus collaborators: micronutrient processing by pathogenic and commensal human-associated gut bacteria. *Molecular Cell*, *78*(4), 570–576. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.03.032.

Chavoya-Guardado, M. A., Vasquez-Garibay, E. M., Ruiz-Quezada, S. L., Ramírez-Cordero, M. I., Larrosa-Haro, A. & Castro-Albarran, J. (2022). Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria in human milk and maternal adiposity. *Nutrients*, *14*(14), 2887. https://doi.org/10.3390/nu14142887.

Chen, J., Chen, X. & Ho, C. L. (2021). Recent development of probiotic bifidobacteria for treating human diseases. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.770248.

Chen, X., Lu, Y., Chen, T. & Li, R. (2021). The female vaginal microbiome in health and bacterial vaginosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.631972.

Chong, H.-Y., Tan, L. T.-H., Law, J. W.-F., Hong, K.-W., Ratnasingam, V., Ab Mutalib, N.-S., Lee, L.-H. & Letchumanan, V. (2022). Exploring the potential of human milk and formula milk on infants' gut and health. *Nutrients*, *14*(17), 3554. https://doi.org/10.3390/nu14173554.

Collado, M. C., Derrien, M., Isolauri, E., de Vos, W. M. & Salminen, S. (2007). Intestinal integrity and *Akkermansia muciniphila* , a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly. *Applied and Environmental Microbiology*, *73*(23), 7767–7770. https://doi.org/10.1128/AEM.01477-07.

Cosovanu, C. & Neumann, C. (2020). The many functions of FOXP3+ regulatory T cells in the intestine. *Frontiers in Immunology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.600973.

Cussotto, S., Delgado, I., Anesi, A., Dexpert, S., Aubert, A., Beau, C., Forestier, D., Ledaguenel, P., Magne, E., Mattivi, F. & Capuron, L. (2020). Tryptophan metabolic pathways are altered in obesity and are associated with systemic inflammation. *Frontiers in Immunology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00557.

Daniel, A. I., Shama, S., Ismail, S., Bourdon, C., Kiss, A., Mwangome, M., Bandsma, R. H. & O'Connor, D. L. (2021). Maternal BMI is positively associated with human milk fat: a systematic review and meta-regression analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *113*(4), 1009–1022. https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa410.

Davis, E. C., Wang, M. & Donovan, S. M. (2022). Microbial interrelationships across sites of breastfeeding mothers and infants at 6 weeks postpartum. *Microorganisms*, *10*(6), 1155. https://doi.org/10.3390/microorganisms10061155.

Debnath, N., Kumar, R., Kumar, A., Mehta, P. K. & Yadav, A. K. (2021). Gut-microbiota derived bioactive metabolites and their functions in host physiology. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, *37*(2), 105–153. https://doi.org/10.1080/02648725.2021.1989847.

Delroisse, J.-M., Boulvin, A.-L., Parmentier, I., Dauphin, R. D., Vandenbol, M. & Portetelle, D. (2008). Quantification of Bifidobacterium spp. and Lactobacillus spp. in rat fecal samples by real-time PCR. *Microbiological Research*, *163*(6), 663–670. https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.09.004.

Demmelmair, H., MacDonald, A., Kotzaeridou, U., Burgard, P., Gonzalez-Lamuno, D., Verduci, E., Ersoy, M., Gokcay, G., Alyanak, B., Reischl, E., Müller-Felber, W., Faber, F., Handel, U., Paci, S. & Koletzko, B. (2018). Determinants of plasma docosahexaenoic acid levels and their relationship to neurological and cognitive functions in pku patients: a double blind randomized supplementation study. *Nutrients*, *10*(12), 1944. https://doi.org/10.3390/nu10121944.

Differding, M. K., Benjamin-Neelon, S. E., Hoyo, C., Østbye, T. & Mueller, N. T. (2020). Timing of complementary feeding is associated with gut microbiota diversity and composition and short chain fatty acid concentrations over the first year of life. *BMC Microbiology*, *20*(1), 56. https://doi.org/10.1186/s12866-020-01723-9.

Differding, M. K., Doyon, M., Bouchard, L., Perron, P., Guérin, R., Asselin, C., Massé, E., Hivert, M. & Mueller, N. T. (2020). Potential interaction between timing of infant complementary feeding and breastfeeding duration in determination of early childhood gut microbiota composition and BMI. *Pediatric Obesity*, *15*(8). https://doi.org/10.1111/ijpo.12642.

Dogra, S., Chung, C., Wang, D., Sakwinska, O., Colombo Mottaz, S. & Sprenger, N. (2021). Nurturing the early life gut microbiome and immune maturation for long term health. *Microorganisms*, *9*(10), 2110. https://doi.org/10.3390/microorganisms9102110.

Dong, T. S., Guan, M., Mayer, E. A., Stains, J., Liu, C., Vora, P., Jacobs, J. P., Lagishetty, V.,

Chang, L., Barry, R. L. & Gupta, A. (2022). Obesity is associated with a distinct brain-gut microbiome signature that connects *Prevotella* and *Bacteroides* to the brain's reward center. *Gut Microbes*, *14*(1). https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2051999.

Du, H.-X., Yue, S.-Y., Niu, D., Liu, C., Zhang, L.-G., Chen, J., Chen, Y., Guan, Y., Hua, X.-L., Li, C., Chen, X.-G., Zhang, L. & Liang, C.-Z. (2022). Gut microflora modulates Th17/Treg cell differentiation in experimental autoimmune prostatitis via the short-chain fatty acid propionate. *Frontiers in Immunology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.915218.

Durack, J. & Lynch, S. V. (2019). The gut microbiome: relationships with disease and opportunities for therapy. *Journal of Experimental Medicine*, *216*(1), 20–40. https://doi.org/10.1084/jem.20180448.

Durda-Masny, M., Ciomborowska-Basheer, J., Makałowska, I. & Szwed, A. (2022). The mediating role of the gut microbiota in the physical growth of children. *Life*, *12*(2), 152. https://doi.org/10.3390/life12020152.

Dwivedi, M., Powali, S., Rastogi, S., Singh, A. & Gupta, D. K. (2021). Microbial community in human gut: a therapeutic prospect and implication in health and diseases. *Letters in Applied Microbiology*, *73*(5), 553–568. https://doi.org/10.1111/lam.13549.

Edwards, C. A., Van Loo-Bouwman, C. A., Van Diepen, J. A., Schoemaker, M. H., Ozanne, S. E., Venema, K., Stanton, C., Marinello, V., Rueda, R., Flourakis, M., Gil, A. & Van der Beek, E. M. (2022). A systematic review of breast milk microbiota composition and the evidence for transfer to and colonisation of the infant gut. *Beneficial Microbes*, *13*(5), 365–381. https://doi.org/10.3920/BM2021.0098.

Fehr, K., Moossavi, S., Sbihi, H., Boutin, R. C. T., Bode, L., Robertson, B., Yonemitsu, C., Field, C. J., Becker, A. B., Mandhane, P. J., Sears, M. R., Khafipour, E., Moraes, T. J., Subbarao, P., Finlay, B. B., Turvey, S. E. & Azad, M. B. (2020). Breastmilk feeding practices are associated with the co-occurrence of bacteria in mothers' milk and the infant gut: the CHILD cohort study. *Cell Host & Microbe*, *28*(2), 285-297.e4. https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.06.009.

Franks, A. H., Harmsen, H. J. M., Raangs, G. C., Jansen, G. J., Schut, F. & Welling, G. W. (1998). Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16s rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(9), 3336–3345. https://doi.org/10.1128/AEM.64.9.3336-3345.1998.

Gagnon, E., Mitchell, P. L., Manikpurage, H. D., Abner, E., Taba, N., Esko, T., Ghodsian, N., Thériault, S., Mathieu, P. & Arsenault, B. J. (2023). Impact of the gut microbiota and associated metabolites on cardiometabolic traits, chronic diseases and human longevity: a Mendelian randomization study. *Journal of Translational Medicine*, *21*(1), 60. https://doi.org/10.1186/s12967-022-03799-5.

Gila-Díaz, A., Herranz Carrillo, G., Cañas, S., Saenz de Pipaón, M., Martínez-Orgado, J. A., Rodríguez-Rodríguez, P., López de Pablo, Á. L., Martin-Cabrejas, M. A., Ramiro-Cortijo, D. & Arribas, S. M. (2020). Influence of maternal age and gestational age on breast milk antioxidants during the first month of lactation. *Nutrients*, *12*(9), 2569. https://doi.org/10.3390/nu12092569.

Groer, M., Fuchs, D., Duffy, A., Louis-Jacques, A., D'Agata, A. & Postolache, T. T. (2018). Associations among obesity, inflammation, and tryptophan catabolism in pregnancy. *Biological Research For Nursing*, *20*(3), 284–291. https://doi.org/10.1177/1099800417738363.

Guo, S., Huang, K., Liu, R., Sun, J. & Yin, C. (2023). Regulation of gut microbiota through breast milk feeding benefits language and cognitive development of preterm toddlers. *Microorganisms*, *11*(4), 866. https://doi.org/10.3390/microorganisms11040866.

Halilagic, A. & Moschonis, G. (2021). The effect of growth rate during infancy on the risk of developing obesity in childhood: a systematic literature review. *Nutrients*, *13*(10), 3449. https://doi.org/10.3390/nu13103449.

Hegar, B., Wibowo, Y., Basrowi, R. W., Ranuh, R. G., Sudarmo, S. M., Munasir, Z., Atthiyah, A. F., Widodo, A. D., Supriatmo, Kadim, M., Suryawan, A., Diana, N. R., Manoppo, C. & Vandenplas, Y. (2019). The role of two human milk oligosaccharides, 2′-Fucosyllactose and Lacto-n-neotetraose, in infant nutrition. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, *22*(4), 330. https://doi.org/10.5223/pghn.2019.22.4.330.

Heiss, B. E., Ehrlich, A. M., Maldonado-Gomez, M. X., Taft, D. H., Larke, J. A., Goodson, M. L., Slupsky, C. M., Tancredi, D. J., Raybould, H. E. & Mills, D. A. (2021). *Bifidobacterium* catabolism of human milk oligosaccharides overrides endogenous competitive exclusion driving colonization and protection. *Gut Microbes*, *13*(1). https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1986666.

Heiss, C. N. & Olofsson, L. E. (2018). Gut microbiota-dependent modulation of energy metabolism. *Journal of Innate Immunity*, *10*(3), 163–171. https://doi.org/10.1159/000481519.

Ho, V. (2021). *The healthy baby gut guide: Prevent allergies, build immunity and develop good gut health from day one* (Hodder & Stoughton, Ed.). Greystone Books. https://gutdr.com/the-healthy-baby-gut-guide/.

Hou, J., Xiang, J., Li, D., Liu, X. & Pan, W. (2022). Gut microbial response to host metabolic phenotypes. *Frontiers in Nutrition*, *9*. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1019430.

Hou, K., Wu, Z.-X., Chen, X.-Y., Wang, J.-Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J. & Chen, Z.-S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *7*(1), 135. https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4.

Hufnagl, K., Pali-Schöll, I., Roth-Walter, F. & Jensen-Jarolim, E. (2020). Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma. *Seminars in Immunopathology*, *42*(1), 75–93. https://doi.org/10.1007/s00281-019-00775-y.

Jeong, S. (2022). Factors influencing development of the infant microbiota: from prenatal period to early infancy. *Clinical and Experimental Pediatrics*, *65*(9), 438–447. https://doi.org/10.3345/cep.2021.00955.

Jiao, Y., Wu, L., Huntington, N. D. & Zhang, X. (2020). Crosstalk between gut microbiota and innate immunity and its implication in autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00282.

Kaczmarczyk, M., Löber, U., Adamek, K., Węgrzyn, D., Skonieczna-Żydecka, K., Malinowski,

D., Łoniewski, I., Markó, L., Ulas, T., Forslund, S. K. & Łoniewska, B. (2021). The gut microbiota is associated with the small intestinal paracellular permeability and the development of the immune system in healthy children during the first two years of life. *Journal of Translational Medicine*, *19*(1), 177. https://doi.org/10.1186/s12967-021-02839-w.

Karampatsas, K., Faal, A., Jaiteh, M., Garcia-Perez, I., Aller, S., Shaw, A. G., Kopytek, A., Witney, A. A. & Le Doare, K. (2022). Gastrointestinal, vaginal, nasopharyngeal, and breast milk microbiota profiles and breast milk metabolomic changes in gambian infants over the first two months of lactation: a prospective cohort study. *Medicine*, *101*(46), e31419. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000031419.

Kim, S., Shin, Y.-C., Kim, T.-Y., Kim, Y., Lee, Y.-S., Lee, S.-H., Kim, M.-N., O, E., Kim, K. S. & Kweon, M.-N. (2021). Mucin degrader *Akkermansia muciniphila* accelerates intestinal stem cell-mediated epithelial development. *Gut Microbes*, *13*(1). https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1892441.

Kociszewska, D. & Vlajkovic, S. M. (2022). The association of inflammatory gut diseases with neuroinflammatory and auditory disorders. *Frontiers in Bioscience-Elite*, *14*(2), 8. https://doi.org/10.31083/j.fbe1402008.

Konstantinidis, T., Tsigalou, C., Karvelas, A., Stavropoulou, E., Voidarou, C. & Bezirtzoglou, E. (2020). Effects of antibiotics upon the gut microbiome: a review of the literature. *Biomedicines*, *8*(11), 502. https://doi.org/10.3390/biomedicines8110502.

Kouwenhoven, S. M. P., Muts, J., Finken, M. J. J. & Goudoever, J. B. van. (2022). Low-protein infant formula and obesity risk. *Nutrients*, *14*(13), 2728. https://doi.org/10.3390/nu14132728.

Kuratsu, M., Hamano, Y. & Dairi, T. (2010). Analysis of the *Lactobacillus* metabolic pathway. *Applied and Environmental Microbiology*, *76*(21), 7299–7301. https://doi.org/10.1128/AEM.01514-10.

Lawson, M. A. E., O'Neill, I. J., Kujawska, M., Gowrinadh Javvadi, S., Wijeyesekera, A., Flegg, Z., Chalklen, L. & Hall, L. J. (2020). Breast milk-derived human milk oligosaccharides promote bifidobacterium interactions within a single ecosystem. *The ISME Journal*, *14*(2), 635–648. https://doi.org/10.1038/s41396-019-0553-2.

Le Doare, K., Holder, B., Bassett, A. & Pannaraj, P. S. (2018). Mother's milk: a purposeful contribution to the development of the infant microbiota and immunity. *Frontiers in Immunology*, *9*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00361.

Li, N., Yan, F., Wang, N., Song, Y., Yue, Y., Guan, J., Li, B. & Huo, G. (2020). Distinct gut microbiota and metabolite profiles induced by different feeding methods in healthy chinese infants. *Frontiers in Microbiology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00714.

Lieke, W. J., Garssen, J., Burcelin, R. & Verhasselt, V. (2019). Shaping the gut microbiota by breastfeeding: the gateway to allergy prevention? *Frontiers in Pediatrics*, *7*. https://doi.org/10.3389/fped.2019.00047.

Lind, M. V., Larnkjær, A., Mølgaard, C. & Michaelsen, K. F. (2018). *Breastfeeding, breast milk composition, and growth outcomes* (pp. 63–77). Nestlé Nutrition Institute Workshop Series. https://doi.org/10.1159/000486493.

Lisboa, P. C., Miranda, R. A., Souza, L. L. & Moura, E. G. (2021). Can breastfeeding affect the rest of our life? *Neuropharmacology*, *200*, 108821. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108821.

Liu, J., Tan, Y., Cheng, H., Zhang, D., Feng, W. & Peng, C. (2022). Functions of gut microbiota metabolites, current status and future perspectives. *Aging and disease*, *13*(4), 1106. https://doi.org/10.14336/AD.2022.0104.

Lokossou, G. A. G., Kouakanou, L., Schumacher, A. & Zenclussen, A. C. (2022). Human breast milk: from food to active immune response with disease protection in infants and mothers. *Frontiers in Immunology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.849012.

Łoniewski, I., Skonieczna-Żydecka, K., Stachowska, L., Fraszczyk-Tousty, M., Tousty, P. & Łoniewska, B. (2022). Breastfeeding affects concentration of faecal short chain fatty acids during the first year of life: results of the systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Nutrition*, *9*. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.939194.

Loos, R. J. F. & Yeo, G. S. H. (2022). The genetics of obesity: from discovery to biology. *Nature Reviews Genetics*, *23*(2), 120–133. https://doi.org/10.1038/s41576-021-00414-z.

Ma, J., Li, Z., Zhang, W., Zhang, C., Zhang, Y., Mei, H., Zhuo, N., Wang, H., Wang, L. & Wu, D. (2020). Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: a study of 91 term infants. *Scientific Reports*, *10*(1), 15792. https://doi.org/10.1038/s41598-020-72635-x.

Mandy, M. & Nyirenda, M. (2018). Developmental origins of health and disease: the relevance to developing nations. *International Health*, *10*(2), 66–70. https://doi.org/10.1093/inthealth/ihy006.

Mantzorou, M., Papandreou, D., Vasios, G. K., Pavlidou, E., Antasouras, G., Psara, E., Taha, Z., Poulios, E. & Giaginis, C. (2022). Exclusive breastfeeding for at least four months is associated with a lower prevalence of overweight and obesity in mothers and their children after 2–5 years from delivery. *Nutrients*, *14*(17), 3599. https://doi.org/10.3390/nu14173599.

Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., Vancanneyt, M. & Schleifer, K.-H. (1996). Application of a suite of 16S rRNA-specific oligonucleotide probes designed to investigate bacteria of the phylum cytophaga-flavobacter-bacteroides in the natural environment. *Microbiology*, *142*(5), 1097–1106. https://doi.org/10.1099/13500872-142-5-1097.

Marume, A., Archary, M. & Mahomed, S. (2022). Validation of growth standards and growth references: a review of literature. *Journal of Child Health Care*, *26*(3), 498–510. https://doi.org/10.1177/13674935211024816.

McGuire, M. K. & McGuire, M. A. (2021). Microbiomes and childhood malnutrition: what is the evidence? *Annals of Nutrition and Metabolism*, *77*(Suppl. 3), 36–48. https://doi.org/10.1159/000519001.

Mejía-León, Maria E., López-Domínguez, L., Aguayo-Patrón, S. V., Caire-Juvera, G. & Calderón de la Barca, A. M. (2018). Dietary changes and gut dysbiosis in children with type 1 diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*, *37*(6), 501–507. https://doi.org/10.1080/07315724.2018.1444519.

Mejía-León, María Esther, Petrosino, J. F., Ajami, N. J., Domínguez-Bello, M. G. & Calderón de

la Barca, A. M. (2014). Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes. *Scientific Reports*, *4*(1), 3814. https://doi.org/10.1038/srep03814.

Miniet, A. A., Grunwell, J. R. & Coopersmith, C. M. (2021). The microbiome and the immune system in critical illness. *Current Opinion in Critical Care*, *27*(2), 157–163. https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000800.

Mishra, S. P., Wang, B., Jain, S., Ding, J., Rejeski, J., Furdui, C. M., Kitzman, D. W., Taraphder, S., Brechot, C., Kumar, A. & Yadav, H. (2023). A mechanism by which gut microbiota elevates permeability and inflammation in obese/diabetic mice and human gut. *Gut*, gutjnl-2022-327365. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327365.

Mitrea, L., Nemeş, S.-A., Szabo, K., Teleky, B.-E. & Vodnar, D.-C. (2022). Guts imbalance imbalances the brain: a review of gut microbiota association with neurological and psychiatric disorders. *Frontiers in Medicine*, *9*. https://doi.org/10.3389/fmed.2022.813204.

Nagel, E. M., Jacobs, D., Johnson, K. E., Foster, L., Duncan, K., Kharbanda, E. O., Gregg, B., Harnack, L., Fields, D. A. & Demerath, E. W. (2021). Maternal dietary intake of total fat, saturated fat, and added sugar is associated with infant adiposity and weight status at 6 mo of age. *The Journal of Nutrition*, *151*(8), 2353–2360. https://doi.org/10.1093/jn/nxab101.

Najafian, B. & Khosravi, M. H. (2020). Breastfeeding and Gut Microbiota. En I. J. Al-Zwaini, Z. R. Al-Ani & W. Hurley (Eds.), *Infant Feeding*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.92404.

Nguyen, T. T. B., Chung, H.-J., Kim, H.-J. & Hong, S.-T. (2019). Establishment of an ideal gut microbiota to boost healthy growth of neonates. *Critical Reviews in Microbiology*, *45*(1), 118–129. https://doi.org/10.1080/1040841X.2018.1561643.

Niu, J., Xu, L., Qian, Y., Sun, Z., Yu, D., Huang, J., Zhou, X., Wang, Y., Zhang, T., Ren, R., Li, Z., Yu, J. & Gao, X. (2020). Evolution of the gut microbiome in early childhood: a cross-sectional study of chinese children. *Frontiers in Microbiology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00439.

Nobile, S., Di Sipio Morgia, C. & Vento, G. (2022). Perinatal origins of adult disease and opportunities for health promotion: a narrative review. *Journal of Personalized Medicine*, *12*(2), 157. https://doi.org/10.3390/jpm12020157.

Notarbartolo, V., Giuffrè, M., Montante, C., Corsello, G. & Carta, M. (2022). Composition of human breast milk microbiota and its role in children's health. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, *25*(3), 194. https://doi.org/10.5223/pghn.2022.25.3.194.

Oliphant, K. & Allen-Vercoe, E. (2019). Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health. *Microbiome*, *7*(1), 91. https://doi.org/10.1186/s40168-019-0704-8.

Onis, M. (2007). WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatrica*, *95*, 76–85. https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2006.tb02378.x.

Organización Mundial de la Salud. (2003). *Infant and young child feeding*. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infant-and-young-child-feeding.

Parkin, K., Christophersen, C. T., Verhasselt, V., Cooper, M. N. & Martino, D. (2021). Risk factors for gut dysbiosis in early life. *Microorganisms*, *9*(10), 2066.

https://doi.org/10.3390/microorganisms9102066.

Portincasa, P., Bonfrate, L., Vacca, M., De Angelis, M., Farella, I., Lanza, E., Khalil, M., Wang, D. Q.-H., Sperandio, M. & Di Ciaula, A. (2022). Gut microbiota and short chain fatty acids: implications in glucose homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(3), 1105. https://doi.org/10.3390/ijms23031105.

Prentice, A. M. (2020). *Environmental and physiological barriers to child growth and development* (pp. 125–132). https://doi.org/10.1159/000503349.

Robertson, R. C., Manges, A. R., Finlay, B. B. & Prendergast, A. J. (2019). The human microbiome and child growth – first 1000 days and beyond. *Trends in Microbiology*, *27*(2), 131–147. https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.09.008.

Romaní-Pérez, M., Bullich-Vilarrubias, C., López-Almela, I., Liébana-García, R., Olivares, M. & Sanz, Y. (2021). The microbiota and the gut–brain axis in controlling food intake and energy homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11), 5830. https://doi.org/10.3390/ijms22115830.

Ruddle, L. (2021). *Mixed Up: Combination Feeding by Choice or Necessity*. https://www.amazon.com/Mixed-Up-Combination-Feeding-Necessity/dp/1946665487.

Saddki, N., Mohamad, N., Johar, N., Alina Tengku Ismail, T. & Sulaiman, Z. (2022). Determinants of non-exclusive breastfeeding practice during the first 6 months after an elective caesarean birth: a prospective cohort study. *International Breastfeeding Journal*, *17*(1), 36. https://doi.org/10.1186/s13006-022-00475-8.

Scheithauer, T. P. M., Rampanelli, E., Nieuwdorp, M., Vallance, B. A., Verchere, C. B., van Raalte, D. H. & Herrema, H. (2020). Gut microbiota as a trigger for metabolic inflammation in obesity and type 2 diabetes. *Frontiers in Immunology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.571731.

Sekerel, B. E., Bingol, G., Cullu Cokugras, F., Cokugras, H., Kansu, A., Ozen, H. & Tamay, Z. (2021). An expert panel statement on the beneficial effects of human milk oligosaccharides (hmos) in early life and potential utility of hmo-supplemented infant formula in cow's milk protein allergy. *Journal of Asthma and Allergy*, *Volume 14*, 1147–1164. https://doi.org/10.2147/JAA.S323734.

Shin, Y.-L. (2019). The timing of rapid infant weight gain in relation to childhood obesity. *Journal of Obesity & Metabolic Syndrome*, *28*(4), 213–215. https://doi.org/10.7570/jomes.2019.28.4.213.

Shinn, L. M., Tangney, C. C., Busche, C., Sharp, C. M. & Mullen, M. C. (2018). Demographic correlates of infant feeding practices and growth performance in the first year of life. *International Journal of Pediatrics*, *2018*, 1–6. https://doi.org/10.1155/2018/6569204.

Stevenson, D. M. & Weimer, P. J. (2007). Dominance of *Prevotella* and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *75*(1), 165–174. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0802-y.

Sun, S., Luo, L., Liang, W., Yin, Q., Guo, J., Rush, A. M., Lv, Z., Liang, Q., Fischbach, M. A., Sonnenburg, J. L., Dodd, D., Davis, M. M. & Wang, F. (2020). *Bifidobacterium* alters the

gut microbiota and modulates the functional metabolism of T regulatory cells in the context of immune checkpoint blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *117*(44), 27509–27515. https://doi.org/10.1073/pnas.1921223117.

Tang, J., Xue, P., Huang, X., Lin, C. & Liu, S. (2022). Diet and nutrients intakes during infancy and childhood in relation to early puberty: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, *14*(23), 5004. https://doi.org/10.3390/nu14235004.

Taniya, M. A., Chung, H.-J., Al Mamun, A., Alam, S., Aziz, Md. A., Emon, N. U., Islam, Md. M., Hong, S.-T. shool, Podder, B. R., Ara Mimi, A., Aktar Suchi, S. & Xiao, J. (2022). Role of gut microbiome in autism spectrum disorder and its therapeutic regulation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.915701.

Tofalo, R., Cocchi, S. & Suzzi, G. (2019). Polyamines and gut microbiota. *Frontiers in Nutrition*, *6*. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00016.

Trabulsi, J. C., Smethers, A. D., Eosso, J. R., Papas, M. A., Stallings, V. A. & Mennella, J. A. (2020). Impact of early rapid weight gain on odds for overweight at one year differs between breastfed and formula-fed infants. *Pediatric Obesity*, *15*(10). https://doi.org/10.1111/ijpo.12688.

Vijay, A. & Valdes, A. M. (2022). Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review. *European Journal of Clinical Nutrition*, *76*(4), 489–501. https://doi.org/10.1038/s41430-021-00991-6.

Vizzari, G., Morniroli, D., Ceroni, F., Verduci, E., Consales, A., Colombo, L., Cerasani, J., Mosca, F. & Giannì, M. L. (2021). Human milk, more than simple nourishment. *Children*, *8*(10), 863. https://doi.org/10.3390/children8100863.

Walter, J., Tannock, G. W., Tilsala-Timisjarvi, A., Rodtong, S., Loach, D. M., Munro, K. & Alatossava, T. (2000). Detection and identification of gastrointestinal *Lactobacillus* species by using denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific pcr primers. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(1), 297–303. https://doi.org/10.1128/AEM.66.1.297-303.2000.

Wang, M., Li, M., Wu, S., Lebrilla, C. B., Chapkin, R. S., Ivanov, I. & Donovan, S. M. (2015). Fecal microbiota composition of breast-fed infants is correlated with human milk oligosaccharides consumed. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, *60*(6), 825–833. https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000752.

Wang, T., Udomkittivorakul, N., Bonfield, M., Nadeem, A., Gray, J. & Deshmukh, H. (2020). Early life antibiotic exposure and host health: Role of the microbiota–immune interaction. *Seminars in Perinatology*, *44*(8), 151323. https://doi.org/10.1016/j.semperi.2020.151323.

Wang, Z., Neupane, A., Vo, R., White, J., Wang, X. & Marzano, S.-Y. L. (2020). Comparing gut microbiome in mothers' own breast milk- and formula-fed moderate-late preterm infants. *Frontiers in Microbiology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00891.

Wernroth, M.-L., Peura, S., Hedman, A. M., Hetty, S., Vicenzi, S., Kennedy, B., Fall, K., Svennblad, B., Andolf, E., Pershagen, G., Theorell-Haglöw, J., Nguyen, D., Sayols-Baixeras, S., Dekkers, K. F., Bertilsson, S., Almqvist, C., Dicksved, J. & Fall, T. (2022). Development of gut microbiota during the first 2 years of life. *Scientific Reports*, *12*(1), 9080. https://doi.org/10.1038/s41598-022-13009-3.

Xiao, H. & Kang, S. (2020). The role of the gut microbiome in energy balance with a focus on the gut-adipose tissue axis. *Frontiers in Genetics*, *11*. https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00297.

Yi, D. & Kim, S. (2021). Human breast milk composition and function in human health: from nutritional components to microbiome and microRNAs. *Nutrients*, *13*(9), 3094. https://doi.org/10.3390/nu13093094.

Zhai, Z., Dong, W., Sun, Y., Gu, Y., Ma, J., Wang, B. & Cao, H. (2022). Vitamin–microbiota crosstalk in intestinal inflammation and carcinogenesis. *Nutrients*, *14*(16), 3383. https://doi.org/10.3390/nu14163383.

Zhan, Q., Wang, R., Thakur, K., Feng, J.-Y., Zhu, Y.-Y., Zhang, J.-G. & Wei, Z.-J. (2022). Unveiling of dietary and gut-microbiota derived B vitamins: metabolism patterns and their synergistic functions in gut-brain homeostasis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–13. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2138263.

Zhang, Y., Zhang, X., Mi, L., Li, C., Zhang, Y., Bi, R., Pang, J. & Li, Y. (2022). Comparative proteomic analysis of proteins in breast milk during different lactation periods. *Nutrients*, *14*(17), 3648. https://doi.org/10.3390/nu14173648

Zhu, J. & Dingess, K. A. (2019). The functional power of the human milk proteome. *Nutrients*, *11*(8), 1834. https://doi.org/10.3390/nu11081834

Zhuang, L., Chen, H., Zhang, S., Zhuang, J., Li, Q. & Feng, Z. (2019). Intestinal microbiota in early life and its implications on childhood health. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, *17*(1), 13–25. https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.10.002.

Zong, X.-N., Li, H., Zhang, Y.-Q. & Wu, H.-H. (2020). Growth performance comparison of exclusively breastfed infants with partially breastfed and formula fed infants. *PLOS ONE*, *15*(8), e0237067. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237067.