Uso de calostro como terapia inmunológica en recién nacidos prematuros

Primera parte

Lic. María Cristina Malerba°

RESUMEN

El recién nacido prematuro de muy bajo peso al nacer (RNPBPN), es inmunológicamente inmaduro y presenta una alteración en las barreras naturales de defensa contra las infecciones.

Uno de los mecanismos naturales de defensa del cuerpo es la saliva, que previene la contaminación oral. Esta función inmune natural puede verse interrumpida en neonatos enfermos, por el uso prolongado de sondas orogástricas y tubos endotraqueales.

El calostro es el fluido biológico producido por la glándula mamaria después del parto, antes de que modifique gradualmente sus características iniciales y se convierta en leche madura. Proporciona la nutrición de los recién nacidos (RN), protección contra patógenos, promueve el desarrollo del sistema inmunitario, equilibra la flora intestinal y asegura el crecimiento, maduración y reparación de los tejidos. La leche de madres que dieron a luz prematuramente, contiene un nivel mayor de proteínas, inmunoglobulina A (IgA), lactoferrina y menos cantidad de lactosa que la leche de término, lo cual es apropiado para un RN inmaduro.

La obtención de leche materna para los neonatos internados en las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN), requiere un programa de educación a las madres y apoyo para la extracción y posterior conservación desde el primer día del nacimiento.

En este artículo se van a explorar en dos entregas consecutivas, las propiedades específicas de algunos componentes del calostro y su potencial uso clínico para la reducción de la incidencia de contaminación con cepas de microorganismos resistentes y bacterias patógenas en el intestino de neonatos de riesgo, y como barrera contra las infecciones respiratorias.

Palabras clave: recién nacido prematuro, inmunología, microbiota, calostro, leche humana, saliva, flora intestinal.

INTRODUCCIÓN

Los recién nacidos (RN) que nacen prematuros comienzan su vida con una desventaja inmunológica en comparación con los neonatos de término, que reciben anticuerpos maternos transferidos a través de la placenta durante las últimas etapas del embarazo. Los recién nacidos prematuros (RNPT) también son propensos a una colonización intestinal anormal, como resultado del uso rutinario de antibióticos al nacer o debido a que, en algunas UCIN, no se administra leche humana (LH) a pesar de los beneficios avalados por la sólida evidencia disponible. El riesgo aumenta también por el predominio de nacimientos por cesárea y la hospitalización prolongada.

Estos factores sitúan a los prematuros en una desventaja ante los gérmenes patógenos y de alto riesgo de enfermedades inflamatorias inmunes, tanto en el período neonatal temprano como más tarde en la vida. La exposición a los factores inmunológicos encontrados en la leche materna ha demostrado contribuir al desarrollo de una respuesta inmune óptima en el prematuro y superar algunas de las deficiencias de la función inmune innata.

El sistema inmune innato está constituido por barreras físicoquímicas, además de mecanismos inespecíficos como fagocitosis, inflamación, proteínas de fase aguda, sistema del complemento, células *natural killer* (NK) y células dendríticas. La inmunidad innata tiene un papel fundamental durante los primeros días de vida del neonato prematuro, mientras el sistema in-

° Licenciada en Enfermería. Miembro del Comité Ejecutivo de la Revista Enfermería Neonatal. Correo electrónico: crismalerba@gmail.com

mune adaptativo se desarrolla a través de la interacción del medio con la superficie de las mucosas.[1]

En esta etapa, en el cuidado del RNPT se utiliza la humidificación del microambiente, con manipulación estéril y controlada. El sistema inmunitario innato tiene un desarrollo inmaduro que se expresa en una eliminación inadecuada de la infección bacteriana y en un reclutamiento anormal de células inmunitarias en el lugar en donde se presenta la infección o inflamación, llegando a producir daño en el tejido huésped.[2] Esta primera respuesta innata no guarda memoria frente a los agentes patógenos.

La inmunidad adquirida o adaptativa, en cambio, tiene respuestas más lentas que la innata frente a los agresores, pero presenta dos ventajas: el reconocimiento específico del antígeno, y la memoria que permite una rápida recuperación de la respuesta inicial a la exposición de dicho antígeno. Es aquí donde los resultados tendrán relación directa con la calidad del cuidado que reciba este neonato en la Unidad.

Estos conceptos permitirán relacionar estas limitaciones descriptas del sistema inmune prematuro, con los beneficios que la LH, y en particular el uso del calostro como tópico en la orofaringe, pueda aportar a nivel sistémico. En primer lugar, se destaca la modalidad de alimentación y la elección de la leche.

El feto ingiere líquido amniótico que contiene factores de crecimiento, electrolitos y proteínas. Una vez producido el nacimiento prematuro, esta nutrición enteral se detiene y esto podría disminuir la integridad estructural y funcional, mediante la disminución de la actividad hormonal, afectar el crecimiento de la mucosa intestinal, la actividad de la lactasa, la absorción de nutrientes y/o la maduración motora.

La estimulación enteral trófica o alimentación enteral mínima (AEM), se define como la administración de leche materna o fórmula, en cantidades no significativas para el crecimiento y sostenida por varios días.[1] Los beneficios de la AEM en la función intestinal son contundentes. Los RN que reciben esta modalidad de alimentación, tienen un tiempo de tránsito intestinal más rápido y mejores patrones de motilidad gastrointestinal (GI) que se traducen clínicamente en mejor tolerancia y más rápido alcance a la alimentación enteral total.[3]

Elección de la leche. Factores inmunológicos en la leche humana

La leche materna o de fórmula utilizadas en las primeras tomas, tienen impacto sobre la tolerancia y posterior progresión de la alimentación, con implicancias sobre el crecimiento del RN. Hay sólida evidencia sobre la necesidad de utilizar calostro para las primeras alimentaciones tróficas.

Diversas investigaciones enfatizan la importancia de la toma de decisiones en el momento de alimentar a los RNPBPN, ya que la elección de la leche tendría un impacto decisivo en la salud futura del individuo.[4-6]

La LH aporta importantes beneficios en el desarrollo neurológico y se reporta un menor nivel de síndrome metabólico en la adolescencia y adultez. Se la considera el estándar de oro entre los nutrientes protectores.

La lactoferrina es una proteína del suero que se encuentra en la leche materna, tiene función antinfecciosa y aporta defensas contra patógenos entéricos infecciosos como *Eschericia coli* en el intestino delgado. En estudios que evalúan compuestos bioactivos en la leche materna de madres de prematuros, se ha demostrado que la lactoferrina disminuye con el tiempo, al final del primer mes de extracción de leche, ya que se considera un fluido corporal dinámico.

El contenido bacteriológico, bioquímico e inmunológico del calostro y la leche madura de madres de RN extremadamente prematuros, es particularmente valioso para estos lactantes. Deben hacerse esfuerzos para intentar que los neonatos prematuros reciban leche de sus propias madres o de donantes, en caso de contar con un banco de leche humana disponible.

Es crítico para el RN que se evite la proliferación de bacterias patógenas, que puedan producir sepsis y la muerte del huésped. Se sabe que la IgA secretora (IgAs), es un factor clave en este proceso; aglutina bacterias y evita su translocación en un proceso llamado "exclusión inmune".[7]

Al comenzar la AT a través de una sonda orogástrica, los beneficios inmunitarios de la LH pasan por alto el tejido linfoide asociado a la mucosa de la orofaringe. Cuando la primera LH o calostro se administra directamente hisopando la boca del RN, la absorción de los factores inmunológicos a través de la mucosa oral estimula a nivel sistémico la inmunidad y promueve el desarrollo de la barrera protectora del intestino.[4]

Éste podría considerarse, uno de los más prometedores aportes de esta práctica, que se haría en primer lugar en forma simultánea con la AT y posteriormente durante la progresión de la alimentación enteral por sonda.

Transferencia de factores inmunológicos a la leche humana

Durante el desarrollo intrauterino la placenta sirve de

nexo para el transporte de oxígeno, nutrientes y desechos, y actúa además en la síntesis y secreción de hormonas, factores de crecimiento, citoquinas y otras moléculas bioactivas.

Desde el sistema inmune, la placenta fue inicialmente percibida como una barrera para proteger el "injerto" del feto en desarrollo, de una respuesta inmune materna.[7]

Los retrasos en el desarrollo inmunológico que pudieran suceder en la vida fetal, son contrarrestados por la transferencia de factores inmunes maternos a través de la placenta y en la leche materna. Por lo tanto, la competencia inmunológica materna es relevante no sólo para la salud del embarazo, sino también para la protección continua del hijo después del nacimiento.

Aunque el sistema inmunológico es cualitativamente completo en el momento del nacimiento, hay retrasos significativos en la maduración de defensas específicas. Estos retrasos son necesarios para conservar energía y nutrientes para otros sistemas complejos de órganos.

Según Kohler y Farr (1966), en los embarazos sin patología, la transferencia de anticuerpos es altamente eficiente y la concentración de inmunoglobulina G (IgG) materna en la sangre del cordón umbilical, supera la de la IgG en el suero de la madre. Sin embargo, la mayoría de la IgG materna se transfiere en las últimas 4 a 6 semanas del embarazo. Esto implica una gran desventaja inmunológica para los prematuros, que portan una deficiencia de IgG en la primera infancia. Las anomalías placentarias asociadas con el parto prematuro pueden agravar este problema al limitar la eficacia de la transferencia, como en casos de infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). También la hipergammaglobulinemia materna, observada en madres de regiones con una alta tasa de infecciones, y evidenciada en altos niveles séricos de proteína C reactiva, da como resultado una menor eficiencia en la transferencia.[7]

Diversos estudios también han explorado la variabilidad en los factores inmunes de la leche materna.[8-10] La composición de la LH está determinada por varios factores: edad gestacional al momento del parto, etapa de la lactancia, edad materna, paridad y sexo del recién nacido, infecciones maternas y variabilidad en los factores inmunes de la leche materna por país de nacimiento materno. Esto último es una problemática actual por las migraciones en Latinoamérica.

Algunos investigadores han explorado el papel del estado nutricional materno en los factores inmunes de la leche materna. Los estudios observacionales no han detectado ninguna asociación entre el estado nutricional materno y los factores inmunes de la leche materna. Sin embargo, todavía está pendiente investigar acerca de los cambios de los factores inmunológicos a partir de los procesos de la manipulación de la leche extraída por las madres de RN internados. Estos consisten en: extracción de leche materna, almacenamiento, traslado, congelamiento, descongelamiento, fraccionamiento y administración al RN.

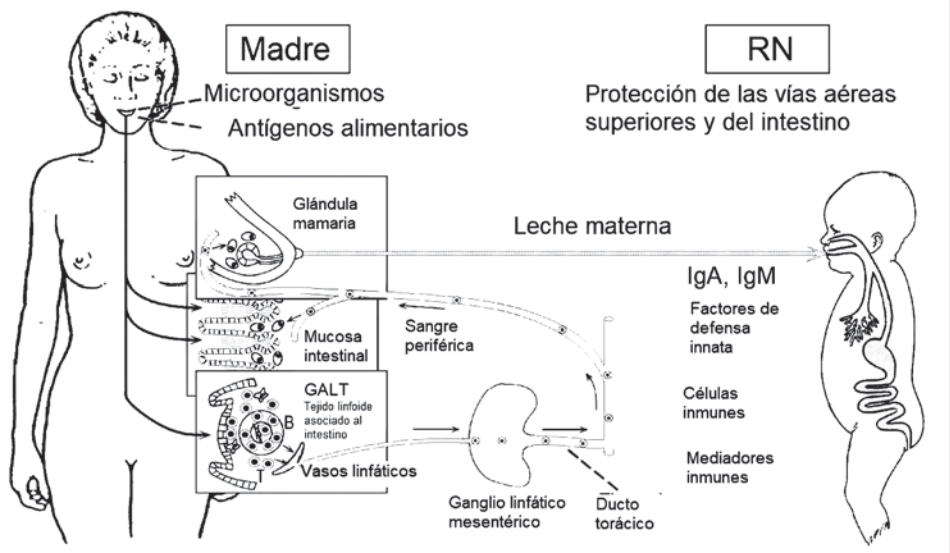
Se cree que numerosos componentes de la leche materna humana desempeñan un papel esencialmente no nutricional. Estos incluyen anticuerpos maternos, leucocitos maternos, citoquinas, quimiocinas y hormonas. Los componentes de la leche materna inicialmente considerados por su valor nutricional, también pueden conferir protección inespecífica contra patógenos. Por ejemplo, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) liberados al digerir los glóbulos de grasa de la leche, también pueden actuar en la desestabilización de las membranas celulares de ciertos patógenos. En los seres humanos, la IgAs es la proteína defensiva primaria que ha sido estudiada más ampliamente. Realiza la exclusión inmune, previene la colonización bacteriana y la invasión, y neutraliza ciertos virus.[11]

La conexión entero-mamaria, asegura que los factores transferidos en la leche protejan a los RN, en especial a los prematuros, contra patógenos específicos del entorno materno, por ejemplo, los propios de la Unidad. Las células del plasma secretan anticuerpos, que son reconocidos y absorbidos en la superficie de las células epiteliales mamarias, en el espacio intersticial y se liberan en la leche.[12]

Las bacterias también pueden propagarse a mucosas distantes de la del aparato digestivo; es conocida la circulación de células del sistema inmunitario entre los distintos compartimentos del tejido linfoide asociado a mucosas. Una vez estimuladas por la presencia de las bacterias, estas células podrían migrar desde la mucosa intestinal y colonizar mucosas distantes como las de los tractos respiratorio y genitourinario, o la de la glándula mamaria lactante (*Figura 1*).

En este último caso, se establece la ruta entero-mamaria, una conexión específica durante los últimos meses de gestación y la lactancia. Durante tales períodos, se produce un cúmulo selectivo y masivo de células del sistema inmunitario de origen intestinal en la glándula mamaria, mediante un proceso regulado por las hormonas lactogénicas. En cualquier caso, estos procesos entero-mamarios implican el establecimiento de interacciones específicas entre las células del epitelio intestinal, las bacterias intestinales y las células del sistema inmunitario del tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal.

Figura 1. Integración de la inmunidad de la mucosa entre la madre y el recién nacido



RN: recién nacido.

Adaptado de: Brandtzaeg P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. Vaccine. 2003;21:3382-8.

Mediante este mecanismo entero-mamario, el lactante, alimentado con leche materna, recibirá anticuerpos secretores relevantes dirigidos contra la microbiota que coloniza sus mucosas y que serán mejor protegidas tanto en el intestino como en las vías respiratorias.

La principal función de la inmunidad materna es proteger de las infecciones al feto en desarrollo y al lactante. De hecho, la vacunación materna para impulsar la producción de anticuerpos específicos se considera una estrategia potencialmente importante para reducir la carga de la infección neonatal e infantil.

Más allá de los anticuerpos, otros factores con propiedades protectoras conocidas son sintetizados por las células epiteliales mamarias y secretados en la leche. La lactoferrina y la lisozima son capaces de degradar algunas paredes celulares bacterianas y tienen actividades antivirales y antifúngicas. Los oligosacáridos de la leche tienen actividad antimicrobiana. Actúan imitando a los carbohidratos superficiales en la mucosa intestinal, con lo que se confunde la unión bacteriana y la invasión. Los ácidos grasos en la leche pueden debilitar las membranas celulares de los patógenos.[11]

Los factores inmunes actúan, sin activar una respuesta inmune inflamatoria potencialmente peligrosa.

En el calostro, las concentraciones de lactosa y glucosa son significativamente inferiores a las encontradas en la leche madura. Las concentraciones de la mayoría de las citoquinas e inmunoglobulinas son mayores que en la leche madura, al igual que la IgAs, presente en el calostro y leche de transición materna, es notablemente mayor en leche de madres de prematuros (*Figura 2*). La IgAs, previene la adhesión de las bacterias al aparato respiratorio y a la mucosa intestinal.[12] La composición de la LH es dinámica, se lo considera un alimento funcional, que varía sus componentes de acuerdo a las necesidades del destinatario. Esta variabilidad requiere la implementación de estrategias para optimizar el manejo de la LH en la Unidad, con el fin de que todos estos beneficios lleguen al RN de riesgo.

Microbiota de la leche humana

El cambio de la vida intrauterina a la extrauterina en mamíferos, es trascendental en muchos sentidos. Un aspecto importante es la necesidad de enfrentar una serie de patógenos microbianos. Los primeros patógenos se encuentran inicialmente en la piel y la mucosa. Los retrasos en el desarrollo inmunitario del RNPBPN, son compensados con la LH. Como resultado, los RN que reciben leche extraída de sus propias madres, tie-

nen menos riesgo de infección respiratoria e intestinal que los alimentados con fórmula.

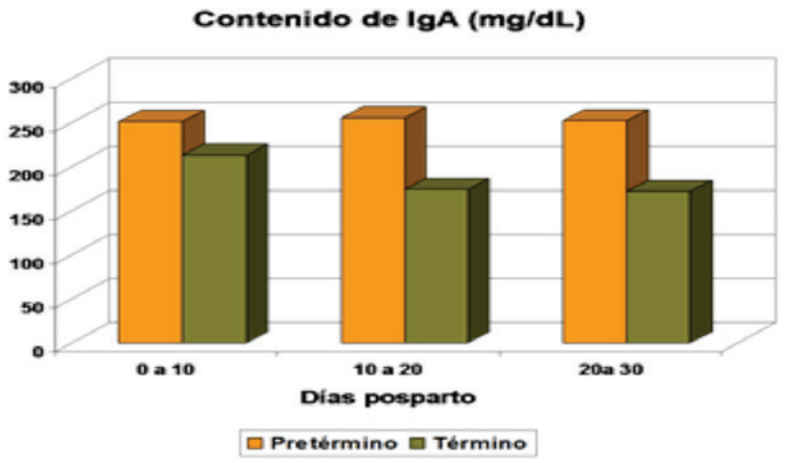
Tradicionalmente se ha considerado que la colonización del intestino del neonato empezaba durante el parto, debido a la contaminación de su cavidad oral con bacterias procedentes de la microbiota vaginal y anal de la madre; posteriormente, las bacterias pasarían de la boca del niño al pecho de la madre y, en consecuencia, contaminarían la leche al ser eyectada.[9]

La mayoría de los prematuros nacen por cesáreas programadas o de urgencia y carecen del mencionado contacto inicial.

Cuadro 1. Factores inmunológicos en la leche humana pretérmino

- Oligopolisacáridos y azúcares solubles: previenen la unión de bacterias y virus a la pared intestinal. Nutren selectivamente a las bacterias beneficiosas.
- Previenen la enterocolitis necrotizante.
- *Bifidobacterias:* inhiben el crecimiento de gérmenes patógenos entéricos.
- Inhibidores del metabolismo patógeno de los microbios: la lactoferrina y las proteínas que enlazan los folatos y la vitamina B12 impiden el crecimiento de gérmenes *in vitro.*
- Factores estimuladores de la proliferación de colonias de leucocitos como granulocitos y macrófagos y la fibronectina que facilita la función de los fagocitos.
- Inmunoglobulinas IgA, IgG, IgD, IgE, IgM: fundamentalmente la IgA secretora con mayor concentración en el calostro que en la leche madura, protege frente a gérmenes del tracto gastrointestinal de la madre.
- Agentes inmunomoduladores: prolactina, IgA secretora, prostaglandina E2 y algunas citoquinas.
- Péptidos: derivados de la caseína que regulan la motilidad gastrointestinal y otros como el péptido inhibidor de la gastrina y la bombesina, que actúan sobre el crecimiento, maduración y regulación gastrointestinal.
- Lípidos: ciertos ácidos grasos de cadena media, mono- y poli-insaturados ejercen una actividad antivírica, antibacteriana y anti fúngica.
- Lisozima: enzima de acción antimicrobiana; divide la capa de la pared celular microbiana y provoca su lisis.
- Antioxidantes: contrarrestan la acción de las especies reactivas al oxígeno (superóxido dismutasa, catalasa, vitamina A, E y C, caseínas, y minerales como selenio, cobre y zinc).

Figura 2. Comparación del contenido de IgA en leche humana pretérmino y término



Fuente: Ronayne P, López N. Inmunoglobulin A level in human milk from mothers delivering preterm. *Clin Nutr.* 1984;40:465-467.

En el caso de la leche materna extraída para RN internados en una Unidad, la eventual contaminación sería dada en la secuencia de extracción, traspaso, almacenamiento y fraccionamiento de la leche.

La translocación de lactobacilos en el aparato digestivo de mujeres embarazadas con una placenta completamente normal, deriva en la presencia de estas bacterias en el líquido amniótico, un proceso que tiene influencia beneficiosa en el proceso de gestación ya que se ha asociado a una menor tasa de prematuridad.[13]

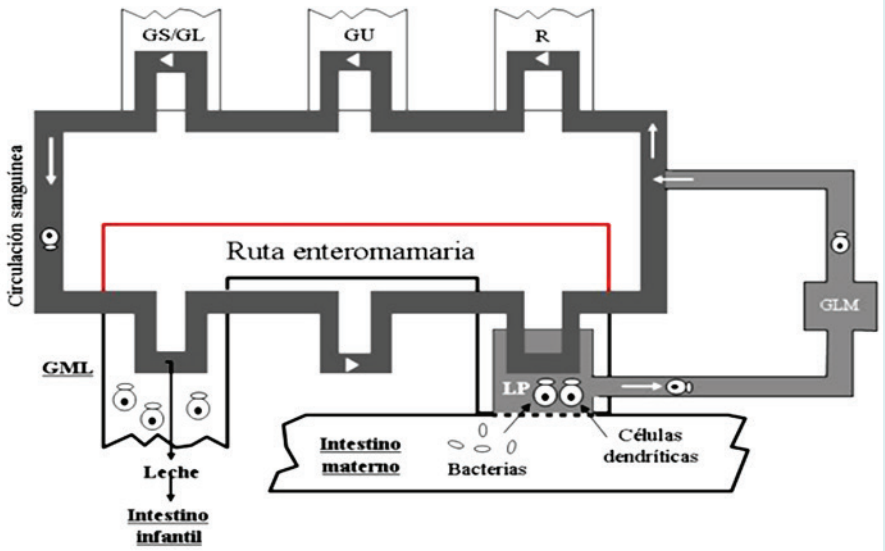
Se ha detectado ADN microbiano en el meconio. Esto indica que la microbiota tiene un origen intrauterino y que el ambiente intrauterino no es estéril. Muestras fecales tomadas de niños diagnosticados con enterocolitis necrotizante (ECN) muestran una reducción de la diversidad con gran aumento de gammaproteobacterias y disminución del número de otras. Debe tenerse en cuenta que los RN que reciben antibióticos precozmente, disminuyen la diversidad microbiana. Algunos investigadores están explorando si la falta de diversidad en las cepas bacterianas se relaciona con la predisposición a una ECN.[8]

La leche materna es una fuente importante de bacterias comensales, mutualistas o probióticas para el intestino neonatal. Entre las bacterias predominantes se destacan diversas especies de estafilococos, estreptococos y bacterias lácticas. Por lo tanto, este fluido representa uno de los factores clave en el desarrollo de la microbiota intestinal del neonato.[14,15]

Las bacterias de la leche podrían desempeñar un papel importante en la prevención de enfermedades infecciosas y en la maduración del sistema inmunitario. Algunos estudios recientes indican que al menos una parte de las bacterias comensales existentes en la leche podrían proceder de la microbiota intestinal materna y accederían a la glándula mamaria a través de la ruta entero-mamaria (*Figura 3*).[9,12] Hasta hace pocos años, se pensaba que la leche materna era estéril. Ocasionalmente, se ha procedido a la detección e identificación de bacterias potencialmente patógenas en leche almacenada, en casos de mastitis o contaminaciones posteriores a la extracción.

Se ha puesto en evidencia que las bacterias lácticas que colonizan inicialmente el intestino neonatal, se

Figura 3. Acceso de las bacterias comensales intestinales a la leche humana a través de la ruta entero-mamaria



GLM: ganglio linfático mesentérico; **GML:** mucosa de la glándula mamaria lactante; **GSL:** mucosa de las glándulas salivales y lacrimales; **GU:** mucosa del tracto genitourinario; **LP:** lámina propia; R: mucosa del tracto respiratorio.

Fuente: Rodríguez JM, Jiménez E, Merino V, Maldonado A et al.. Microbiota de la leche humana en condiciones fisiológicas. Acta Pediatr Esp. 2008; 66(2):77-82.

pueden transmitir de forma vertical entre la madre y el RN mediante la leche materna incluso en aquellos nacidos por cesárea. Todos estos estudios sugieren que la piel de la madre y/o el tránsito por el canal del parto representan, en el mejor de los casos, fuentes insignificantes de bacterias para el intestino del RN.[15]

Como se mencionó anteriormente la IgA es un factor clave en este proceso al aglutinar bacterias y evitar su translocación en un proceso denominado "exclusión inmune". La evidencia dice que la IgA humana podría facilitar el crecimiento de bacterias entéricas normales bajo ciertas condiciones y la formación del biofilm mediante la flora intestinal humana normal.

La ECN tiene un origen multifactorial y se caracteriza por la ulceración del intestino delgado y grueso especialmente en RN prematuros. En su etiología, se describen alteraciones estructurales y funcionales relacionadas con: falta de integridad de la barrera, capacidad digestiva, de absorción, movilidad intestinal, microbiota intestinal, e inmunidad.[6] El éxtasis intestinal que tienen los RN prematuros puede afectar la flora intestinal, que contribuye a una exagerada inflamación al desplegar el sistema inmune en forma descontrolada.

Se considera una estrategia factible para reducir la ECN, el contacto precoz con calostro de la propia madre, ya sea en fauces, como en todo el sistema gastrointestinal. El calostro mediante sus componentes bioactivos, contribuye a la maduración del tracto digestivo, al equilibrio de la microbiota intestinal, la modulación de los intestinos, el sistema inmune y la reparación de la mucosa.[15]

Soto, Martín y col., han publicado que la administración de antibióticos durante el embarazo y la lactancia, altera la microflora de la LH.[17] Esto debe ser tenido en cuenta por la frecuente medicalización a la que se ven sometidas las mujeres que han cursado embarazos con enfermedades de base, o complicaciones como ruptura prematura de membranas. Estas suelen ser las madres de los RN internados en la UCIN.

Otro factor importante que se considera una barrera natural a los patógenos es la saliva. El proteoma salival consta de miles de proteínas que incluyen, entre otros, los moduladores hormonales de la ingesta y la producción de energía.

Las funciones digestivas y protectoras de la saliva se complementan para defenderse de las infecciones bacterianas y de los antígenos, con la ayuda del anticuerpo salivar, secreción de IgA, así como enzimas, tales como lactoferrina, sialoperoxidasa, lisozima e histatinas. Esta función cumple, entonces, un importante papel para el cuidado de la mucosa oral del RN que requiere por largo tiempo un tubo endotraqueal y una sonda gástrica.[18]

CONCLUSIONES

En esta primera parte del artículo, se han descripto las características del sistema inmune inmaduro del prematuro, la transferencia de los factores defensivos a la leche materna y las características de los factores inmunológicos de la leche pretérmino. Las bacterias de la LH, podrían desempeñar un papel destacado en la prevención de enfermedades infecciosas y en la maduración de la inmunidad.

La LH contiene agentes que afectan al crecimiento, desarrollo y funciones del epitelio, sistema inmune o sistema nervioso del tracto GI. El calostro afecta el crecimiento de las vellosidades intestinales y estimula la resistencia a ciertas enfermedades inflamatorias inmunomediadas, como la ECN.

Las propiedades únicas de la LH, proporcionan al RNPT, propiedades inmunológicas, antiinfecciosas, antiinflamatorias, epigenéticas y de protección de las membranas mucosas. El calostro es un líquido biológico complejo que es más rico en péptidos antimicrobianos, compuestos reguladores de la inmunidad y factores de crecimiento que la leche madura subsiguiente. La actividad antimicrobiana del calostro puede ser directa en agentes patógenos o indirecta por estimulación del crecimiento de una microbiota intestinal sana.

Las deficiencias estructurales y funcionales del intestino del RNPT, relacionadas con una relativa integridad de barrera, menor capacidad digestiva y de absorción, peristalsis intestinal ineficiente, microbiota intestinal particular influida por los diferentes factores mencionados, e inmadurez inmunológica, están involucradas en el desarrollo y progresión de la ECN. La acción de los componentes biológicamente activos de la LH, pueden contribuir a la maduración del tracto digestivo, al equilibrio de la microbiota intestinal, la modulación de los intestinos, el sistema inmune y la reparación de la mucosa del RNPT.

En el primer número del 2018 de la revista, los lectores dispondrán de la 2° parte del presente artículo, en donde se hará un resumen del estado actual de la investigación sobre la administración del calostro por vía orofaríngea, la contribución del contacto piel a piel en el desarrollo de la inmunidad del RNPT, y los recursos para que la madre aporte calostro para su hijo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gregory KE, Walker WA. Inmunologic factors in human milk and disease prevention in the preterm infant. *Curr Pediatr Rep* 2013 Dec;1(4).

2. Nussbaum C, Sperandio M. Innate immune cell recruitment in the fetus and neonate. *J Reprod Immunol* 2011 Jun;90(1):74-81.

3. Sociedad Iberoamericana de Neonatología. Tercer consenso clínico de SIBEN. Nutrición del recién nacido enfermo, 2009. [Acceso: 6 de noviembre de 2017]. Disponible en: http://www.manuelosses.cl/BNN/siben_3_nutricion_rn_enfermo.pdf.

4. Patra K, Hamilton M, Johnson TJ, Greene M, et al. NICU Human Milk Dose and 20-Month Neurodevelopmental Outcome in Very Low Birth Weight Infants. *Neonatology* 2017;112(4):330-6.

5. Schanler RJ. Outcomes of Human Milk-Fed Premature Infants. *Semin Perinatol* 2011 Feb;35(1):29-33.

6. Gephart SM, Weller M. Colostrum as Oral Immune Therapy to Promote Neonatal Health. *Adv Neonatal Care* 2014 Feb;14(1):44-51.

7. Murguía-Peniche T, Mihatsch WA, Zegarra J, Supapannachart S, et al. Intestinal mucosal defense system, Part 2. Probiotics and prebiotics. *J Pediatr* 2013 Mar;162(3 Suppl):S64-71.

8. Menchetti L, Traina G, Tomasello G, Casagrande-Proietti P, et al. Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases. *Front Biosci* (Schol Ed) 2016 Jun 1;8:331-51. Review.

9. Kelly D, Coutts AGP. Early nutrition and the development of immune function in the neonate. Proceedings of the Nutrition Society. Cambridge University Press; 2000; 59(2):177-85.

10. Albenzio M, Santillo A, Stolfi I, Manzoni P, et al. Lactoferrin Levels in Human Milk after Preterm and Term Delivery. *Amer J Perinatol* 2016;33(11):1085-9.

11. Tudehope DI. Human milk and the nutritional need of preterm infants. *J Pediatrics* March 2013;162(3), Suppl:S17-S25.

12. Palmer AC. Nutritionally mediated programming of the developing immune system. *Adv Nutr* 2011 Sep;2(5):377-95.

13. Rodríguez J, Jiménez E, Merino V, Maldonado A. Microbiota de la leche humana en condiciones fisiológicas. *Acta Pediatr Esp* 2008; 66(2):27-31.

14. Simister NE. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine* 2003 Jul 28;21(24):3365-9. Review.

15. Field CJ, Johnson IR, Schley P. Nutrients and their role in host resistance to infection. *J Leukoc Biol* 2002 Jan;71(1):16-32.

16. Brandtzaeg P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. *Vaccine* 2003 Jul 28; 21(24):3382-8.

17. Bollinger R, Everett ML, Palestrant D, Love SD, et al. Human secretory immunoglobulin A may contribute to biofilm formation in the gut. *Immunology 2003* Aug;109(4):580-7.

18. Soto A, Martín V, Jiménez E, Mader I, et al. Lactobacilli and Bifidobacteria in Human Breast Milk: Influence of Antibiotherapy and Other Host and Clinical Factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014 Jul;59(1):78-88.