



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE  
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos  
(FoodUPV)

Introducción de la alimentación complementaria en niños  
con fibrosis quística: Estudio in vitro de digestibilidad de  
macronutrientes e impacto sobre microbiota colónica

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos

AUTOR/A: Laguna Lleonart, Paula

Tutor/a: Andrés Grau, Ana María

Cotutor/a: Calvo Lerma, Joaquim

Cotutor/a: Heredia Gutiérrez, Ana Belén

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

# INTRODUCCIÓN DE LA ALIMENTACIÓN COMPLEMENTARIA EN NIÑOS CON FIBROSIS QUÍSTICA: ESTUDIO *IN VITRO* DE DIGESTIBILIDAD DE MACRONUTRIENTES E IMPACTO SOBRE MICROBIOTA COLÓNICA

Laguna Lleonart, P., Calvo-Lerma, J.<sup>1</sup>, Asensio-Grau, A.<sup>1</sup>, Andrés, A.<sup>1</sup>

## RESUMEN

Las condiciones de insuficiencia pancreática exocrina asociadas a la fibrosis quística (FQ) comprometen la digestibilidad de los nutrientes, poniendo en riesgo el crecimiento adecuado en los niños que la padecen. Para revertir la mala digestión, se aplica la terapia de sustitución enzimática (TSE) que consiste en la ingesta, en cada comida, de pancreatina encapsulada. Sin embargo, la presencia persistente de grasa en heces y los síntomas asociados (diarrea y estreñimiento) siguen siendo cuadros frecuentes debido a que las dosis de pancreatina siguen siendo poco precisas. En este estudio, centrado en la etapa de alimentación complementaria (6-24 meses), se pusieron a punto modelos *in vitro* estáticos de digestión gastrointestinal y fermentación colónica para evaluar tanto la digestibilidad de lípidos y proteínas, como el efecto sobre la microbiota colónica de distintos alimentos. El diseño experimental permitió evaluar el efecto matriz en papillas de diferente composición, el efecto de las condiciones intestinales (niños sanos vs. FQ), y el efecto de la dosis del suplemento enzimático. Los resultados mostraron que la digestibilidad no se vio afectada por la dosis de enzimas, pero sí por la matriz alimentaria. Las papillas con mejor digestibilidad de grasas fueron la de verduras y quinoa, y la de verduras y pavo, seguidas de la de verduras y ternera y la de verduras y huevo. En cambio, las papillas de verduras y merluza, verduras y pollo, y leche y cereales mostraron los porcentajes de lipólisis más bajos (16 – 29 %). Por otro lado, y como era de esperar, el contenido en fibra aportado por las verduras dio lugar a mayores cambios sobre la microbiota, especialmente en cuanto al aumento del género *Veillonella*. En conclusión, no es en la dosis de suplemento enzimático, sino en la composición de las papillas donde se debe poner el foco para realizar recomendaciones nutricionales en niños con FQ y favorecer así el máximo aprovechamiento de los nutrientes de la dieta.

**PALABRAS CLAVE:** Fibrosis quística, insuficiencia pancreática, terapia de sustitución enzimática, alimentación complementaria, digestión *in vitro*, microbiota.

---

<sup>1</sup> Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo – Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España

## RESUM

Les condicions d'insuficiència pancreàtica exocrina associades a la fibrosi quística (FQ) comprometen la digestibilitat dels nutrients, posant en risc el creixement adequat en els xiquets que la patixen. Per a revertir la mala digestió, s'aplica la teràpia de substitució enzimàtica (TSE) que consisteix en la ingesta, en cada menjar, de pancreatina encapsulada. No obstant això, la presència persistent de greix en femta i els símptomes associats (diarrea i restrenyiment) continuen sent quadres freqüents pel fet que les dosis de pancreatina continuen sent poc precises. En este estudi, centrat en l'etapa d'alimentació complementària (6-24 mesos), es van posar a punt models *in vitro* estàtics de digestió gastrointestinal i fermentació colònica per a avaluar tant la digestibilitat de lípids i proteïnes, com l'efecte sobre la microbiota colònica de diferents aliments. El disseny experimental va permetre avaluar l'efecte matriu en farinetes de diferent composició, l'efecte de les condicions intestinals (xiquets sans vs. FQ), i l'efecte de la dosi del suplement enzimàtic. Els resultats van mostrar que la digestibilitat no es va veure afectada per la dosi d'enzims, però sí per la matriu alimentària. Les farinetes amb millor digestibilitat de greixos van ser la de verdures i quinoa, i la de verdures i polit, seguides de la de verdures i vedella i la de verdures i ou. En canvi, les farinetes de verdures i lluç, verdures i pollastre, i llet i cereals van mostrar els percentatges de lipòlisis més baixos (16 – 29%). D'altra banda, i com era d'esperar, el contingut en fibra aportat per les verdures va donar lloc a majors canvis sobre la microbiota, especialment quant a l'augment del gènere *Veillonella*. En conclusió, no és en la dosi de suplement enzimàtic, sinó en la composició de les farinetes on s'ha de posar el focus per a realitzar recomanacions nutricionals en xiquets amb FQ i afavorir així el màxim aprofitament dels nutrients de la dieta.

**PARAULES CLAU:** Fibrosi quística, insuficiència pancreàtica, teràpia de substitució enzimàtica, alimentació complementària, digestió *in vitro*, microbiota.

## ABSTRACT

The conditions of exocrine pancreatic insufficiency associated with cystic fibrosis (CF) compromise the digestibility of nutrients, jeopardizing proper growth in children who suffer from it. To reverse maldigestion, enzyme replacement therapy (PERT) is applied, which consists of the intake of encapsulated pancreatin at each meal. However, the persistent presence of fat in feces and the associated symptoms (diarrhea and constipation) remain frequent because the doses of pancreatin remain inaccurate. In this study, focused on the complementary feeding stage (6-24 months), static *in vitro* models of gastrointestinal digestion and colonic fermentation were developed to evaluate both lipid and protein

digestibility and the effect on colonic microbiota of different foods. The experimental design allowed the evaluation of the matrix effect in purees of different composition, the effect of intestinal conditions (healthy children vs. CF), and the effect of the enzyme supplement dose. The results showed that digestibility was not affected by the enzyme dose but was affected by the dietary matrix. The purees with the best fat digestibility were vegetable and quinoa, and vegetable and turkey, followed by vegetable and beef, and vegetable and egg. In contrast, the vegetable and hake, vegetable and chicken, and milk and cereal purees showed the lowest lipolysis percentages (16 - 29 %). On the other hand, as expected, the fiber content provided by the vegetables resulted in greater changes on the microbiota, especially in terms of the increase of the *Veillonella* genus. In conclusion, it is not in the enzyme supplement dose, but in the composition of the purees where the focus should be placed to make nutritional recommendations in children with CF to favor the maximum utilization of the nutrients in the diet.

**KEY WORDS:** Cystic fibrosis, pancreatic insufficiency, enzyme replacement therapy, complementary feeding, *in vitro* digestion, microbiota.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las afecciones gastrointestinales asociadas a la fibrosis quística (FQ) pueden afectar a la digestión de los alimentos y la absorción de los nutrientes. En concreto, la absorción de grasas es uno de los principales retos nutricionales (Li & Somerset, 2014), que subyace a la obtención inadecuada de energía por parte de bebés, niños o adultos con FQ (Turck et al., 2016).

La insuficiencia pancreática exocrina (IPE) asociada con la enfermedad suele evolucionar en el primer año de vida (Borowitz et al., 2009; Freswick et al., 2022). Esta es una de las principales causas del retraso en el crecimiento durante la infancia, cuando hasta el 80% de la grasa ingerida puede ser excretada en las heces debido a la obstrucción del conducto pancreático y por ende la insuficiente presencia de pancreatina en el intestino delgado (Dodge & Turck, 2006).

En cuanto a la digestión de proteínas, estudios *in vitro* han demostrado que la variación de las condiciones de digestión junto con la inmadurez del sistema digestivo infantil alteran la especificidad, la velocidad y el alcance de la proteólisis de los alimentos infantiles, planteando problemas únicos en esta población (Gan et al., 2018).

La reducción de la secreción pancreática rica en bicarbonato en pacientes con IPE altera el pH del medio intraluminal intestinal. La falta de este importante poder neutralizante ácido, la falta de líquido para la hidratación del contenido intestinal y la reducción de la capacidad enzimática para digerir los alimentos

ingeridos son las principales variables que contribuyen de manera multifactorial a los síntomas de la enfermedad, y a la digestibilidad y absorción final de nutrientes (De Lisle & Borowitz, 2013).

En este sentido, el cribado neonatal ofrece la oportunidad de una intervención médica y nutricional precoz, que abarca recomendaciones de seguimiento y tratamiento para los lactantes diagnosticados con FQ, y poder anticiparse a un posible deterioro del estado nutricional (Borowitz et al., 2009).

Los primeros alimentos que los bebés son capaces de consumir después de la leche materna o de fórmula son los purés, generalmente a partir de los 6 meses de edad (Gan et al., 2018). Las recomendaciones actuales indican que se puede incorporar cualquier tipo de alimento a partir de esta edad, sin que haya restricciones por potenciales alérgenos, como los presentes en el huevo, los cereales o el pescado (EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA) et al., 2019).

Además del control de la dieta, un tratamiento específico de la población con FQ e IPE es la terapia de sustitución enzimática (TSE), que consiste en la administración de pancreatina de origen porcino (lipasa, proteasa, y amilasa), encapsulada con recubrimiento entérico, para subsanar la falta endógena de la misma (Freswick et al., 2022; Turck et al., 2016). Este recubrimiento permanece inalterado a pH ácido con el fin de resistir la fase gástrica, y sólo se solubiliza y libera las enzimas a pH más alcalino (superior a 5,7), con el fin de lograr una lipólisis óptima en el intestino (Calvo-Lerma et al., 2020a).

Aunque existe evidencia científica de que la TSE es eficaz para reducir los síntomas gastrointestinales asociados a la IPE (D'Haese et al., 2014) y mejorar la absorción de grasas y proteínas (Whitcomb et al., 2016), su mecanismo de acción sigue siendo poco conocido (Nishiyama et al., 2018). Por este motivo, en la actualidad la dosis de TSE se determina en función de la edad, el peso del paciente o del contenido en grasa de la comida ingerida (Turck et al., 2016; Freswick et al., 2022). Sin embargo, estudios recientes puesto de manifiesto que no solo la cantidad de grasa es relevante para la dosificación de enzimas, sino que el tipo de grasa y la estructura física de la matriz en la que se encuentra determina la eficiencia de la digestión y absorción de nutrientes (Calvo-Lerma et al., 2020a).

En este sentido, el proyecto europeo MyCyFApp ([www.mycyfapp.eu](http://www.mycyfapp.eu)) llevó a cabo el desarrollo y validación de un modelo para el ajuste óptimo de suplemento enzimático para la población de entre 2 y 18 años (Boon et al., 2020; Calvo-Lerma et al., 2021) pero no existen estudios sobre la dosificación de la TSE para los alimentos típicamente ingeridos por niños de edad temprana (6 – 24 meses).

Además de las complicaciones gastrointestinales, se ha demostrado que las infecciones pulmonares asociadas a la FQ y el tratamiento antibiótico contribuyen a la alteración en la composición de la microbiota colónica o disbiosis (Gelfond et al., 2013; Langdon et al., 2016); que suele ser más aguda durante los primeros

meses de vida, especialmente en cuanto a diversidad y abundancia de bacterias proinflamatorias como *Escherichia coli* (Duytschaever et al., 2011; Hoen et al., 2015). Sin embargo, ningún estudio ha evaluado específicamente el impacto de la introducción de la alimentación complementaria en la modificación de la microbiota intestinal de los lactantes con FQ (Kristensen et al., 2020).

Por todo esto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la digestibilidad de lípidos y proteínas en alimentos suministrados de manera habitual durante la alimentación complementaria, así como el impacto de los mismos sobre la modificación de la microbiota intestinal del lactante.

La consecución de este objetivo está relacionada con los siguientes Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS): ODS 3. Salud y bienestar; ODS 4. Educación de calidad; ODS 10. Reducción de desigualdades; ODS 12. Producción y consumo responsables; y ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Diseño experimental**

En el presente proyecto de investigación se puso a punto un modelo de simulación de la digestión *in vitro* en estático que permitió reproducir las condiciones gastrointestinales de niños sanos y con FQ de edad comprendida entre 6 y 24 meses.

Los condiciones de la etapa gástrica fueron las mismas para los niños sanos y con FQ. Sin embargo, para simular las alteraciones digestivas presentes en la FQ se modificó el pH intestinal de 6,6 a 6 (Asensio-Grau et al., 2019; Ménard et al., 2018). Asimismo, para estudiar el impacto de diferentes dosis de suplemento enzimático sobre la digestibilidad de grasas y proteínas en los niños con FQ, los experimentos de digestión se simularon con diferentes dosis de suplemento de enzimas pancreáticas (Kreon® 10000 LU, Mylan) en base a la práctica clínica actual en este rango de edad, que se ajusta por el contenido lipídico de la dieta (2.000-4.000 unidades de lipasa por gramo de grasa ingerida) (Turck et al., 2016) y el peso del paciente (1.000-2.500 unidades de lipasa por kg) (Freswick et al., 2022). Concretamente, se estableció un rango de dosis comprendido entre 500-3.000 Unidades Lipasa (UL/g grasa).

### **2.2. Materiales**

Las sales de grado analítico (cloruro sódico, cloruro potásico y bicarbonato sódico), pancreatina de páncreas porcino (8 x USP, P7545) y bilis bovina (desecada, no fraccionada, B3883) todos ellos de Sigma-Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO, EE.UU.) se compraron en Sigma-Aldrich, mientras que el extracto gástrico de conejo (RGE-15), que incluye pepsina y lipasa, se adquirió de Lipolytech (Marsella, Francia), y el NaOH (1N) y HCl (1N) se adquirieron en

AppliChem Panreac. El suplemento enzimático comercial utilizado fue suministrado por el Hospital La Fe (Kreon® 10.000 LU, Mylan, Irlanda).

En cuanto a los materiales para las determinaciones analíticas, el kit de cuantificación de ácidos grasos libres (FFA), el etanol (96%, grado HPLC), la solución de Tritón X-100, el ácido tricloroacético (TCA), el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA, reactivo ACS, 99,4-100,6%, polvo), la urea (ReagentPlus®, ≥99,5%, gránulos) y la L-tirosina (≥98%, HPLC) se obtuvieron también de Sigma-Aldrich.

El sulfuro sódico (Na<sub>2</sub>S), la peptona, la L-cisteína y la sal sódica de resazurina que se emplearon para la simulación de la fermentación colónica se obtuvieron de Sigma-Aldrich; y para la caracterización de la microbiota, el kit de extracción de ADN (Cells and Tissue DNA Isolation Kit) se obtuvo de Norgen Biotek Corp®.

### 2.3. Preparación de las muestras

En el estudio se incluyeron siete formulaciones de alimentos en puré (Tabla 1). Cuatro de ellos fueron de origen comercial e incluyen mezcla de verduras, aceite de oliva y una fuente de proteínas (ternera, pavo, merluza o quinoa). Los otros tres fueron de elaboración casera, dos de ellos siguiendo las mismas proporciones entre vegetales/aceite/proteínas que en los productos comerciales, e incluyendo huevo o pollo. El último puré consistió en la mezcla de leche de fórmula infantil (Nestlé NAN OptiPro 2) reconstituida y cereales infantiles (trigo, espelta integral, trigo sarraceno, avena, sémola de maíz, harina de quinoa y harina de arroz; Smileat). Adicionalmente, se incluyeron en el diseño experimental la evaluación de la digestión de los ingredientes por separado: muslo de pollo, huevo hervido, leche en polvo reconstituida y cereales reconstituidos.

**TABLA 1.** Formulaciones infantiles sometidas al proceso de digestión *in vitro*.

	Origen	Código	Formulación	Ingredientes	%
1	Comercial (Smileat)	PVT	Puré de verduras + ternera	Verduras	47
				Ternera	10
				AOVE	1
2	Comercial (Smileat)	PPV	Puré de verduras + pavo	Verduras	45
				Pavo	10
				AOVE	1
3	Comercial (Smileat)	PVM	Puré de verduras + merluza	Verduras	47
				Merluza	9
				AOVE	1
4	Comercial (Smileat)	PVQ	Puré de verduras + quinoa	Verduras	53
				Quinoa	3
				AOVE	1
5	Elaboración casera	PVP	Puré de verduras + pollo	Verduras	45
				Pollo	10
				AOVE	1

6	Elaboración casera	PVH	Puré de verduras + huevo	Verduras	45
				Huevo	10
				AOVE	1
7	Elaboración casera	PLC	Leche en polvo + cereales	Leche	15
				Cereales	4

## 2.4. Digestión *in vitro*

Se siguió un modelo de digestión gastrointestinal *in vitro* infantil para los niños sanos de acuerdo con el protocolo establecido por Ménard et al. (2018) con las modificaciones incluidas en el protocolo establecido por Asensio-Grau et al., (2019) para simular las alteraciones gastrointestinales de los niños con FQ. Para ello, se prepararon disoluciones madre para la preparación diaria de fluido gástrico simulado (SGF) y fluido intestinal simulado (SIF). La disolución madre para el SGF estaba compuesta por cloruro de sodio (94 mM) y cloruro potásico (13 mM). La disolución madre para el SIF estaba compuesta por cloruro sódico (164 mM), cloruro potásico (10 mM) y bicarbonato sódico (85 mM). La fase oral se omitió por ser alimentos triturados y no son sometidos al proceso de masticación pasando directamente al estómago.

Para la simulación de la etapa gástrica, las papillas se colocaron en tubos Falcon de 50 mL en una proporción de 6:4 (v/v), con SGF (pH 3) que se preparó con extracto gástrico de conejo hasta alcanzar una concentración en la mezcla gástrica de 268 U/mL de pepsina y 19 U/mL de lipasa. Se ajustó el pH a 4,5 con HCl (1N) y se agitaron durante 78 minutos a 37°C en una cámara termostática.

La fase intestinal siguió con la adición del SIF al digerido resultante en una proporción 4:6 (v/v), se ajustó el pH en 6,6 en el caso de los niños sanos y en 6 en el caso de los niños con FQ, y se sometió a las mismas condiciones que en la simulación de la fase gástrica.

Para simular las condiciones intestinales de los niños sanos, el SIF se preparó con bilis bovina (3,1 mM, Sigma-Aldrich) y pancreatina porcina (lipasa: 90 U/mL, Sigma-Aldrich).

En el caso de los niños con FQ, se ajustaron diferentes dosis del suplemento enzimático Kreon® 10.000 en función del contenido graso de la papilla: 0, 500, 1000, 2000 y 3000 UL/g grasa de la papilla de estudio para tener las unidades de lipasa/g grasa correspondientes según el diseño experimental.

Cada cápsula de Kreon® 10.000 contiene 150 mg de enzima pancreática porcina en forma de microesferas con un recubrimiento sensible al pH que no se disuelven por debajo de un pH de 6 y que equivalen a 10.000 unidades de lipasa (UL), 8.000 unidades de amilasa (UA) y 600 unidades de proteasa (UP).

Al final de las fases gástrica e intestinal, se tomaron alícuotas para las determinaciones analíticas.



## **2.5. Determinaciones analíticas**

### **2.5.1. Digestibilidad de los lípidos**

La liberación de ácidos grasos durante la digestión se evaluó utilizando un kit de ensayo colorimétrico de ácidos grasos libres (MAK044, Sigma-Aldrich) y mediante un análisis de lipidómica para determinar la abundancia relativa de cada una de las especies lipídicas.

La lipólisis se determinó como porcentaje de ácidos grasos libres al final de las etapas gástrica e intestinal siguiendo el procedimiento descrito por Asensio-Grau et al. (2018).

El perfil lipídico de los alimentos sin digerir, así como el de las alícuotas obtenidas tras la fase intestinal del proceso de digestión *in vitro* se determinó en la Unidad de Análisis del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe mediante un sistema de cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC) acoplado a un espectrómetro iFunnel quadrupole time of flight (QTOF) Agilent 6550 (Agilent Technologies, CA, USA), siguiendo el método descrito previamente por Lluesa et al. (2022). Se identificaron más de 20 grupos de lípidos, con un número variable de especies incluidas en cada uno, que permitieron el análisis de las muestras en función de la abundancia relativa de triacilgliceroles (TG), diacilgliceroles (DG), monoacilgliceroles (MG) y ácidos grasos (FA).

### **2.5.2. Digestibilidad de las proteínas**

La hidrólisis proteica se evaluó determinando la fracción de péptidos solubles en ácido tricloroacético (TCA) (Sigma-Aldrich), según Hernández-Olivas et al. (2022) con ligeras modificaciones. Esta fracción contiene pequeños péptidos y residuos de aminoácidos generados a lo largo de la digestión.

Se añadieron 500  $\mu$ L de una solución de TCA al 36% (p/p) a los digeridos líquidos (1000  $\mu$ L) para alcanzar una concentración final del 12% (p/p). A continuación, las muestras se incubaron a 10 °C durante 15 min y se centrifugaron a 3200 rpm durante 10 min (Eppendorf MiniSpin Plus, Hamburgo, Alemania). Se recogió el sobrenadante y se llevó a cabo una dilución 1:20 en tampón EDTA 50 mM y urea 8 M (pH 10) tanto para los digeridos gástricos como para los intestinales. Se determinó la proteína soluble en TCA por duplicado midiendo la absorbancia a 280 nm. La proteína soluble se calculó mediante una curva de calibración con un rango comprendido entre 0 y 0,5 mg/mL de L-tirosina (Sigma-Aldrich) y los resultados se expresaron como mg de tirosina equivalentes/g proteína en el alimento.

## **2.6. Obtención del inóculo y fermentación colónica *in vitro* en estático**

Para la obtención del inóculo fecal se recogió una muestra de heces de un donante de 5 meses de edad con FQ, en régimen de lactancia materna exclusiva. La muestra se recogió fresca el día del experimento y se mantuvo refrigerada y en anaerobiosis hasta ser inoculada en el biorreactor.

La fermentación colónica se simuló reproduciendo un método estático *in vitro* descrito por Pérez-Burillo et al. (2021) con ligeras modificaciones. La muestra se diluyó al 32% (p/v) con PBS, se centrifugó (10.000 rpm, 5 min), y el sobrenadante se utilizó como inóculo. A continuación, se incorporaron 1,2 mL del inóculo a los viales junto con 4,5 mL de medio de cultivo, materiales previamente esterilizados en autoclave. A continuación, se incorporaron 0,3 g de la fase sólida del digerido intestinal y 0,03 mL de sobrenadante, obtenidos al final de la digestión gastrointestinal *in vitro*. Se simuló la fermentación colónica durante 24 horas a 37°C.

## **2.5 Caracterización de la microbiota intestinal**

Se caracterizó la microbiota cuantificando géneros bacterianos específicos, tanto de la muestra fresca, como del inóculo fecal y tras 24 horas de simulación de la fermentación colónica. Se centrifugaron alícuotas de 1 mL (10.000 rpm, 10 min) y el pellet se utilizó para aislar el ADN bacteriano. Se utilizó el fluorómetro Qubit para determinar el rendimiento de la extracción.

El análisis microbiológico se realizó mediante secuenciación de las regiones V3-V4 del ARNr 16S, utilizando la plataforma Illumina MiSeq (FISABIO Valencia, España). Con el paquete de R llamado DADA2 (versión 1.26.0) (Callahan et al., 2016), se llevó a cabo la evaluación de la calidad y el filtrado de las secuencias forward y reverse, la unión de las mismas, la inferencia de las ASVs (Amplicon Sequence Variants), la eliminación de quimeras y la asignación taxonómica hasta nivel de género, basada en su gran mayoría, en la base de datos SILVA (versión 138.1).

## **2.6 Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó con el software GraphPad Prism 9.0 para Windows. Se ha establecido un nivel de significación estadística del 5% ( $\alpha=0,05$ ) en todos los test y se ha utilizado el test 2-way ANOVA para evaluar las diferencias significativas en la digestibilidad de lípidos y proteínas y el número de copias de la microbiota colónica en función de la composición de los alimentos de estudio. Los resultados se muestran como media  $\pm$  SEM.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

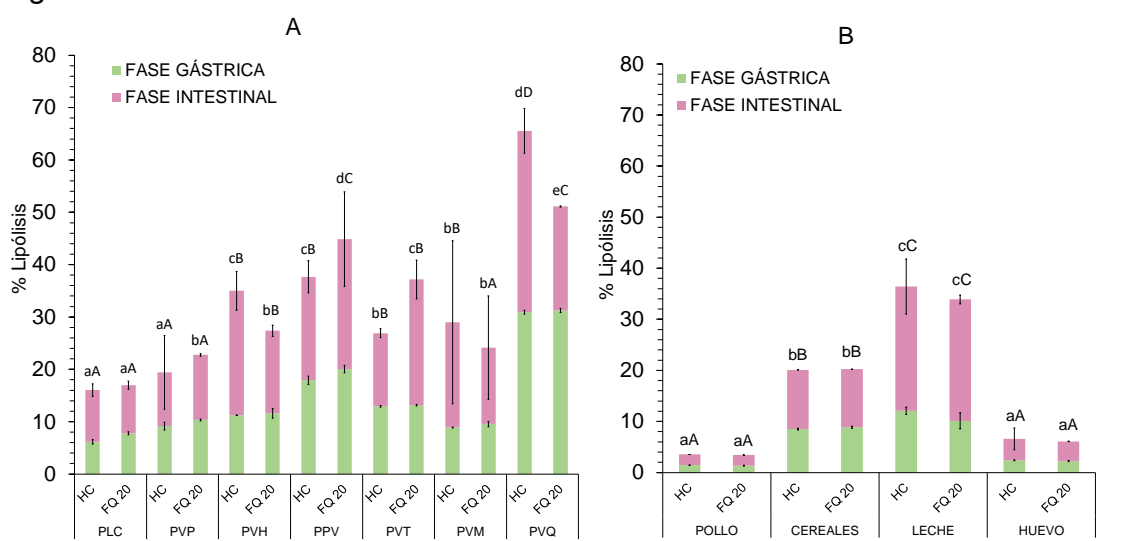
#### 3.1. Efecto de las condiciones digestivas alteradas en FQ y de las interacciones entre ingredientes sobre la digestibilidad de macronutrientes

##### 3.1.1. Digestibilidad de los lípidos

El proceso de digestión comienza en el estómago bajo la acción del fluido gástrico, que contiene las enzimas gástricas lipasa y pepsina, encargadas de efectuar la hidrólisis de lípidos y proteínas, respectivamente (Bourlieu et al., 2014).

La lipasa gástrica tiene un pH óptimo de 4,0 a 5,4, y es estable a los ácidos en el estómago de los lactantes. Además, al ser más activa a un pH ligeramente ácido, puede seguir hidrolizando lípidos en condiciones de pH intestinal (Jiang et al., 2022).

En los lactantes, existe un rápido desarrollo de la lipasa a partir de la 11ª semana de gestación, que alcanza los niveles de actividad máxima al nacer (Lindquist & Hernell, 2010). Es por esto que el grado de digestión gástrica en lactantes es comparable al de los adultos, y conduce a la hidrólisis de un 10-30% de los triglicéridos (Poquet & Wooster, 2016). Estos porcentajes solo se alcanzaron en algunos de los casos (PPV y PVQ) como puede observarse en la Figura 1.



HC: Lactante sano; FQ 20: Lactante con Fibrosis Quística; PLC: Papilla de leche y cereales; PVP: Papilla de verduras y pollo; PVH: Papilla de verduras y huevo; PPV: Papilla de verduras y pavo; PVT: Papilla de verduras y ternera; PVM: Papilla de verduras y merluza; PVQ: Papilla de verduras y quinoa.

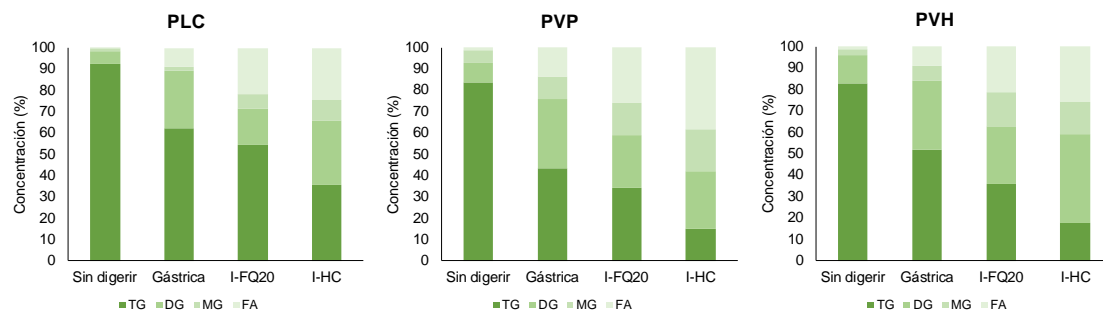
**FIGURA 1.** Porcentaje de lipólisis (g de grasa digerida/100 g de grasa en el alimento) de las formulaciones infantiles (A) y sus ingredientes (B) en condiciones de control sano (90 UL/g grasa) y FQ utilizando una dosis de pancreatina de 2000 UL/g grasa. Las letras minúsculas significan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las condiciones intestinales y las mayúsculas entre las formulaciones infantiles (A) y sus ingredientes (B).

En los adultos, la mayor parte de los lípidos se digieren en el intestino delgado, mientras que en los lactantes, la digestión de lípidos por la lipasa pancreática es limitada debido a la inmadurez de la función pancreática exocrina (Jiang et al., 2022). Por este motivo, la lipólisis gástrica es considerada un fenómeno clave en la digestión eficaz de las grasas en los recién nacidos (Bourlieu et al., 2014).

Mientras que los adultos absorben más del 95% de los lípidos de la dieta, los lactantes absorben entre el 15 y el 30% de los lípidos que consumen debido a su inmadurez digestiva (Abrahamse et al., 2012), posiblemente debido a que no se hidrolizan por completo, tal y como muestran los resultados de la Figura 1. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de lipólisis bajo las condiciones gastrointestinales de los lactantes sanos frente a los lactantes con FQ en ninguno de los casos.

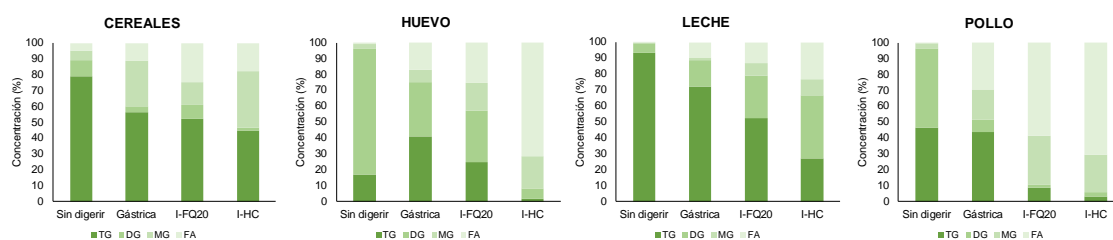
Además, Calvo Lerma et al. (2018) demostraron que en condiciones normales de digestión (pH 7), la organización lipídica en la matriz alimentaria no afecta a la lipólisis, alcanzándose niveles de lipólisis satisfactorios, lo que podría explicar diferencia en los grados de lipólisis obtenidos entre lactantes sanos (pH 6,6) y en condiciones simuladas de IPE-FQ (pH 6). De hecho, poniendo el foco en la comparación de la lipólisis obtenida entre los alimentos individualmente y en su forma de preparación en papilla, se analizaron los posibles efectos de interacciones entre ingredientes. Los estudios han demostrado que la estructura lipídica dentro de la matriz alimentaria junto con las interacciones entre ingredientes y macronutrientes (lípidos-proteína y lípidos-carbohidrato) pueden explicar la diferencia en el alcance de la lipólisis (Calvo-Lerma et al., 2019). En este sentido, comparando los paneles A y B de la Figura 1, la leche muestra una interacción negativa con los cereales que disminuye la digestibilidad de sus lípidos, por lo que se plantearía recomendar un consumo individual y no en formato papilla. En cambio, en el caso del pollo y el huevo, esta interacción es positiva, por lo que deberían consumirse con el resto de ingredientes de la papilla para maximizar la digestibilidad de su grasa. En este último caso, estudios previos mostraron que los medios digestivos con mayores ratios almidón/proteína contribuyen a mejorar la lipólisis (Calvo-Lerma et al., 2020b), especialmente en el contexto de condiciones intestinales alteradas como las de la FQ. Puesto que el pollo y el huevo son alimentos ricos en proteínas y bajos en almidón, el hecho de combinarlos con patata y verduras, habría contribuido a incrementar dicho ratio, y de esta manera se podría explicar el resultado obtenido.

El perfil lipídico de las muestras expresado en unidades concentración de triglicéridos (TG), diglicéridos (DG), monoacilglicéridos (MG) y ácidos grasos (FA) que constituyen las papillas PLC, PVP y PVH y sus correspondientes ingredientes se muestran en las Figuras 2 y 3.



**Gástrica:** Etapa gástrica; **I-HC:** Etapa intestinal del lactante sano; **I-FQ20:** Etapa intestinal del lactante con FQ y dosis de pancreatina de 2000 UL/g grasa; **PLC:** Papilla de leche y cereales; **PVP:** Papilla de verduras y pollo; **PVH:** Papilla de verduras y huevo; **TG:** Triglicéridos; **DG:** Diglicéridos; **MG:** Monoacilglicéridos; **FA:** Ácidos grasos.

**FIGURA 2.** Perfil lipídico de las papillas.

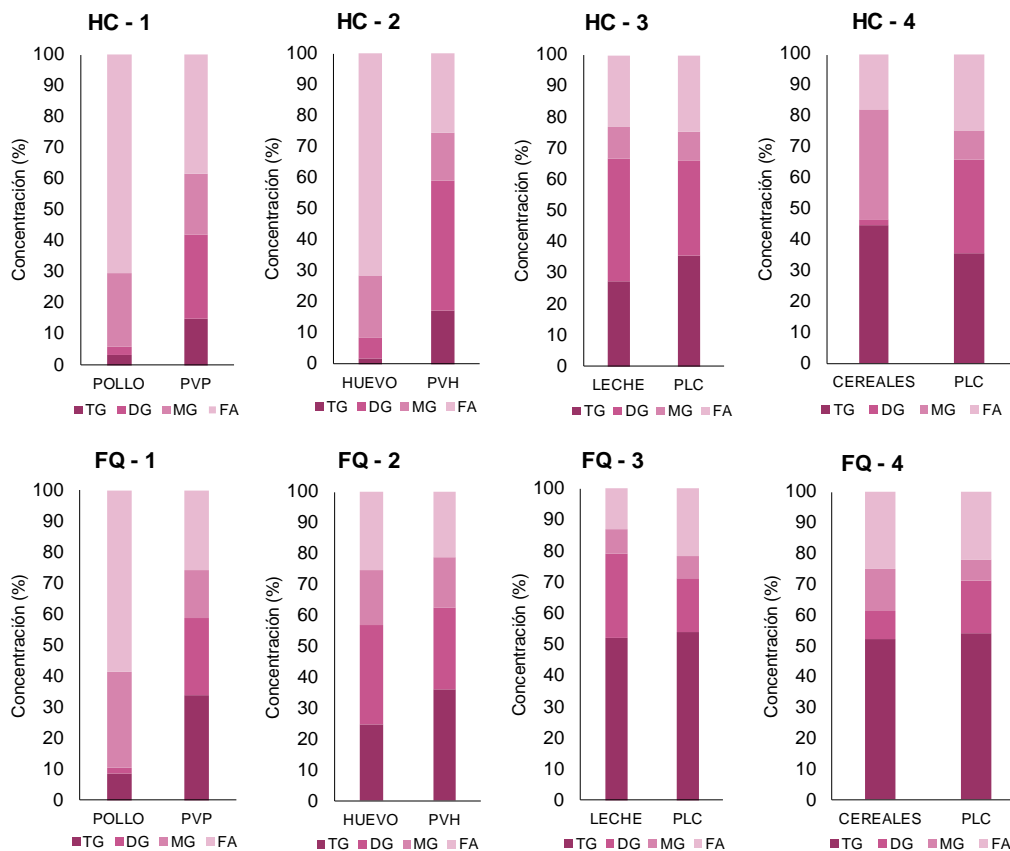


**Gástrica:** Etapa gástrica; **I-HC:** Etapa intestinal del lactante sano; **I-FQ20:** Etapa intestinal del lactante con FQ y dosis de pancreatina de 2000 UL/g grasa; **TG:** Triglicéridos; **DG:** Diglicéridos; **MG:** Monoacilglicéridos; **FA:** Ácidos grasos.

**FIGURA 3.** Perfil lipídico de los ingredientes que constituyen las papillas.

En todas las papillas y alimentos puede observarse una disminución progresiva de concentración de los TG acompañada de un aumento en las especies de DG, MG y FA previa digestión y tras las fases gástrica e intestinal, siendo esta relación más notable en el caso de la fase intestinal de los lactantes sanos (I-HC).

Como puede observarse en la Figura 4, la leche y los cereales no presentan grandes diferencias en sus perfiles lipídicos frente a la papilla de leche y cereales. Por el contrario, en el caso del pollo y el huevo, se produce una disminución de la digestión de las grasas cuando los alimentos pasan a formar parte de las papillas. Esta disminución puede explicarse por el efecto de la interacción lípido-carbohidrato (Calvo-Lerma et al., 2018; Heredia et al., 2021). Por lo tanto, una recomendación dietética para lactantes sanos o con FQ podría ser la introducción de pollo y huevo como alimentos individuales y no como parte de una papilla más compleja, de manera que la digestión de las grasas se maximice (Figura 4).



HC: Lactante sano; FQ: Lactante con Fibrosis Quística; PLC: Papilla de leche y cereales; PVP: Papilla de verduras y pollo; PVH: Papilla de verduras y huevo; PPV: Papilla de verduras y pavo; PVT: Papilla de verduras y ternera; PVM: Papilla de verduras y merluza; PVQ: Papilla de verduras y quinoa.

**FIGURA 4.** Perfil lipídico de las papillas y sus ingredientes tras la fase intestinal de lactantes sanos (HC 1-4) y con FQ (FQ 1-4).

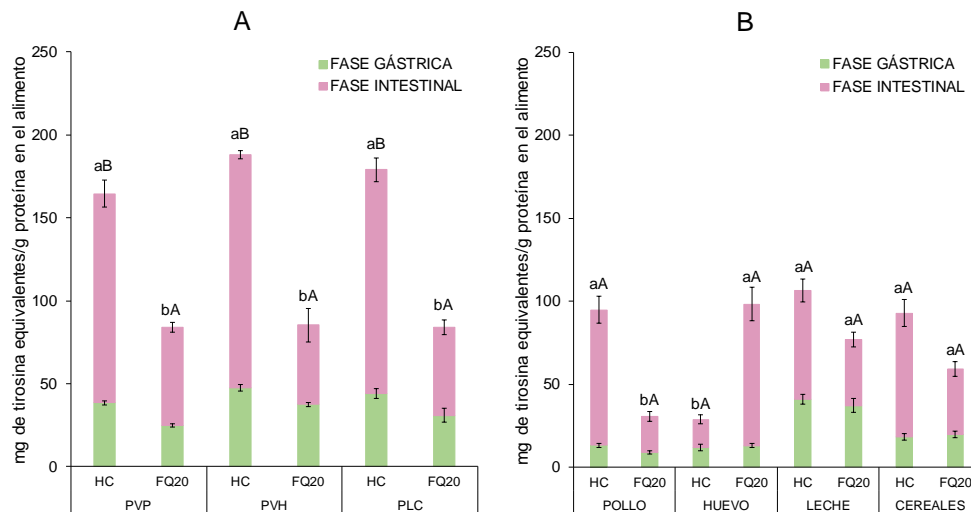
### 3.1.2. Digestibilidad de las proteínas

El desarrollo lento de las pepsinas, que son secretadas en el jugo pancreático del lactante (semana 14), sólo permite alcanzar entorno al 18% de la de la actividad adulta cuatro semanas después del nacimiento. Es por esto, que la digestión de las proteínas obtenida fue baja (Figura 5), y puede explicarse por la combinación de la baja producción de pepsina y un pH gástrico postprandial elevado (pH 4,5), característico de esta etapa vital (Bourlieu et al., 2014).

Además, la composición, estructura y textura de los alimentos complementarios es diversa: la disposición espacial de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas varía considerablemente de una papilla de cereales a una de carne (Ahmed & Ramaswamy, 2006, 2007) e influye en la velocidad y el alcance de la digestión de sus proteínas (Gan et al., 2018).

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones gastrointestinales de los lactantes sanos y con FQ en ninguno de los casos. Este

resultado fue el esperado, ya que no hubo diferencias metodológicas en cuanto a la simulación de la etapa gástrica (misma concentración de pepsinas).



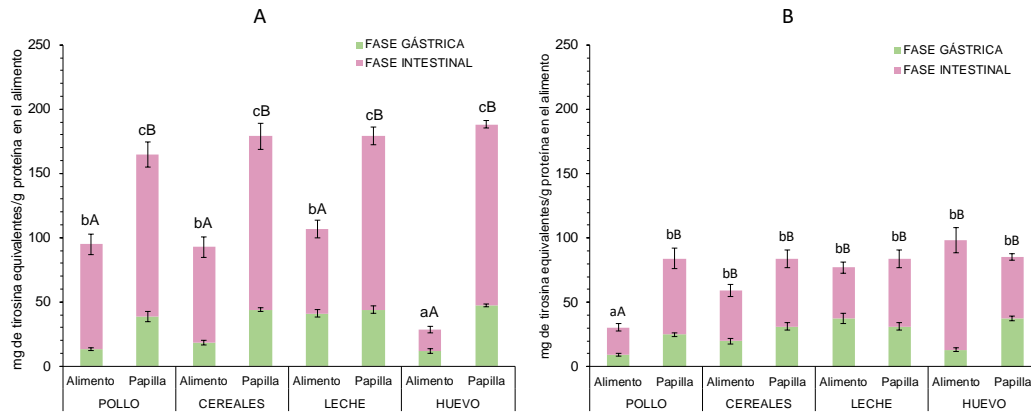
HC: Lactante sano; FQ20: Lactante con Fibrosis Quística; PLC: Papilla de leche y cereales; PVP: Papilla de verduras y pollo; PVH: Papilla de verduras y huevo.

**FIGURA 5.** Extensión de la proteólisis (mg de tirosina equivalentes/g proteína en el alimento) de las formulaciones infantiles (A) y sus ingredientes (B) en condiciones de control sano (90 UL/g grasa) y FQ utilizando una dosis de pancreatina de 2000 UL/g grasa. Las letras minúsculas significan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las condiciones intestinales y las mayúsculas entre las formulaciones infantiles (A) y sus ingredientes (B).

Las complejas estructuras biológicas de los alimentos infantiles y la fisiología del sistema digestivo del lactante son factores clave que afectan a la proteólisis durante los dos primeros años de vida (Gan et al., 2018).

Tras su ingestión, las proteínas de los alimentos infantiles sufren proteólisis en el tracto digestivo infantil antes de ser absorbidas o excretadas. Durante este proceso, algunas de las proteínas se digieren parcialmente. Estas proteínas y sus péptidos pueden interactuar con otras moléculas de la dieta y componentes celulares de los lactantes (Gan et al., 2018).

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones gastrointestinales de los lactantes sanos y con FQ en ninguno de los casos, pero sí entre las papillas y sus ingredientes en todos los casos, a excepción de la papilla de leche y cereales y la leche (Figura 6).



**FIGURA 6.** Extensión de la proteólisis (mg de tirosina equivalentes/g proteína en el alimento) de las formulaciones infantiles y sus ingredientes en condiciones de control infantil (90 UL/g grasa) **(A)** y en condiciones de FQ (2000 UL/g grasa) **(B)**. Las letras minúsculas significan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los ingredientes y las mayúsculas entre alimentos por separado y constituyendo las papillas.

Esto podría explicarse porque las interacciones proteína-lípido pueden cambiar la accesibilidad de los sitios de escisión a las enzimas digestivas y modificar la flexibilidad local de los sustratos (Bourlieu et al., 2014).

### 3.2. Efecto de la dosis de suplemento enzimático sobre la digestibilidad de macronutrientes

A pesar de la hipótesis inicial de que la dosis de suplemento enzimático determinaría la digestibilidad de las grasas (según estudios previos (Calvo-Lerma et al., 2020)), los resultados mostraron que la dosis no tuvo efecto significativo, en ninguna de las formulaciones ensayadas.

Estos resultados son de gran relevancia, ya que sugieren que en el contexto de la digestión intestinal de niños con FQ de 6 meses a 2 años y en papillas, la estructura y composición de los alimentos es la que determina el grado de lipólisis, y no la relación de enzimas que se administre para su digestión.

### 3.4. Impacto de la alimentación complementaria en la microbiota colónica

Antosca et al., (2019) observaron que los lactantes con FQ mostraron un microbioma intestinal distinto al de los lactantes sanos a partir de las 6 semanas de vida, y la diversidad de las comunidades microbianas siguió siendo distinta alcanzado el año de vida.

Del mismo modo, Kristensen et al., (2020) observaron en su estudio de cohortes claras diferencias en la diversidad composición, estabilidad y desarrollo de la comunidad microbiana intestinal entre lactantes sanos y lactantes con FQ a partir de los primeros meses de vida.

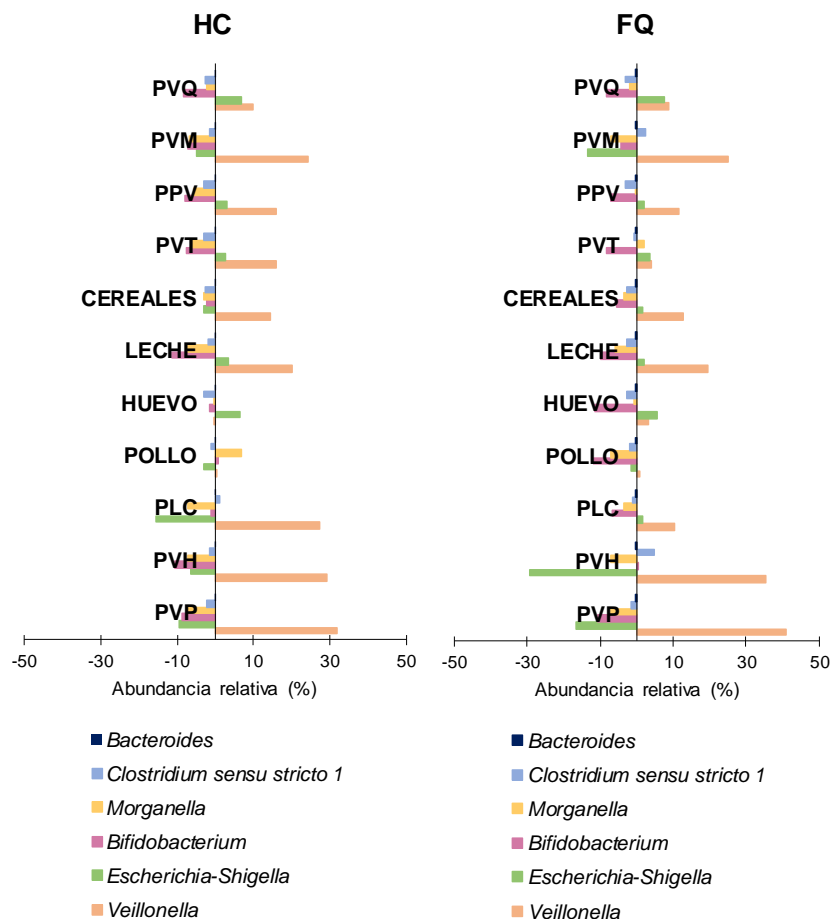
La introducción de alimentos sólidos es un factor que influye en el desarrollo del microbioma intestinal durante la infancia y puede iniciar un cambio hacia una



microbiota similar a la de los adultos impulsada por el cambio de las proporciones de grasas, proteínas, carbohidratos y fibra de la dieta (Homann et al., 2021).

En cuanto a los taxones individuales, el más abundante en las heces del donante fue *Bifidobacterium* (50%), seguido de *Veillonella* (21%) y *Escherichia-Shigella* (13%). El inóculo presentó una composición similar: un 55% de bacterias del género *Bifidobacterium*, un 33% del género *Veillonella* y un 5% del género *Escherichia-Shigella*. Sin embargo, en la microbiota basal (control) se observaron grandes diferencias: *Bifidobacterium* disminuyó de un 50% a un 14% y *Veillonella* y *Escherichia-Shigella* aumentaron de un 21% a un 29% y de un 13% a un 40%, respectivamente.

Los géneros bacterianos más abundantes se muestran en la Figura 8, en la que puede observarse como, en casi todos los casos, la adición de un alimento ha supuesto el aumento del género *Veillonella*, de la misma forma que en casi todos los casos, ha provocado una disminución del resto de géneros, sobre todo en el caso de *Bifidobacterium* y *Escherichia-Shigella*.



HC: Lactante sano; FQ: Lactante con Fibrosis Quística; PLC: Papilla de leche y cereales; PVP: Papilla de verduras y pollo; PVH: Papilla de verduras y huevo; PPV: Papilla de verduras y pavo; PVT: Papilla de verduras y ternera; PVM: Papilla de verduras y merluza; PVQ: Papilla de verduras y quinoa.

**FIGURA 8.** Abundancia relativa de los géneros bacterianos de la microbiota intestinal del lactante sano (HC) y en condiciones de Fibrosis Quística (FQ).

A pesar de que la fermentación colónica se ha simulado en un entorno muy simplificado, los resultados obtenidos muestran que cuando la alimentación complementaria empieza a formar parte de la alimentación de los lactantes, tanto en el caso de los lactantes sanos como con FQ, el género *Bifidobacterium*, disminuye.

Este género es el mayoritario en niños con lactancia materna exclusiva, como fue el caso del donante de las heces, por lo que los resultados obtenidos de la microbiota basal coinciden con los encontrados en la literatura (Parkar et al., 2021; Rivière et al., 2016).

Esto se debe a que el principal sustrato de estas bacterias son los HMO de la leche materna, fracciones de carbohidratos que, al no digerirse, actúan como una fibra, llegan al colon y pueden contribuir al desarrollo de la microbiota intestinal. Por lo tanto, la introducción de alimentos sólidos tras la lactancia promueve cambios específicos en el metabolismo bacteriano e influye en el ritmo de maduración del microbioma intestinal en general (Homann et al., 2021).

En el caso del huevo y el pollo, tanto en la microbiota del lactante sano como en la del lactante con FQ, se observan menos cambios con respecto a la microbiota basal, debido a que son alimentos que no contienen carbohidratos. Esto subraya la importancia de una dieta sana, rica en fibra y diversa a lo largo de la vida, que ha sido asociada con una mayor diversidad y estabilidad del microbioma a lo largo del periodo introductorio (Homann et al., 2021).

El crecimiento de *Veillonella* puede explicarse porque es una de las bacterias características de la FQ (Kristensen et al., 2020), y al encontrarse en una abundancia relativa superior a otras, se ha visto beneficiada para utilizar como sustrato los alimentos a los que ha sido expuesta durante la fermentación colónica. También puede especularse que se ha producido un mayor crecimiento de *Veillonella* cuando mayor era el contenido de fibra en el medio.

#### **4. CONCLUSIONES**

El propósito final de este estudio fue tener la capacidad de guiar las recomendaciones para la alimentación complementaria en lactantes con FQ. Los resultados evidencian que en lugar de buscar proporcionar una dosis óptima que se ajuste a cada alimento, las recomendaciones deberían orientarse hacia qué alimentos consumir y cómo combinarlos, puesto que hemos podido observar que la dosis de suplemento enzimático no es un factor relevante para la digestibilidad.

Para optimizar la alimentación de los niños con FQ en alimentación complementaria, las recomendaciones dietéticas que se proponen en base a nuestros resultados son el consumo de la leche y los cereales de forma individual, debido al efecto de interacción negativa que se presenta cuando forman parte de una papilla (PLC). Sin embargo, se recomienda el consumo de pollo y huevo con

patata y verduras en base a la interacción positiva identificada. En cuanto a las papillas, se recomienda el consumo de PVQ, PPV, PVT y PVH.

Por otro lado, el estudio ha mostrado que cuando se introduce la alimentación complementaria, ocurre un cambio en la microbiota basal del lactante. En nuestro caso de estudio, tanto si el alimento está bien digerido (en condiciones de lactante sano), como si el alimento no lo está (condiciones de IPE-FQ), se favorece la pérdida de las bifidobacterias, que son las bacterias características de los lactantes y cuyo sustrato son principalmente los oligosacáridos de la leche materna (HMOs). En el caso de la FQ, lo que se ha observado la promoción del crecimiento de otros géneros, sobre todo *Veillonella*, que es uno de los que se encuentran de manera mayoritaria en la microbiota basal. Por lo tanto, la introducción de alimentos sólidos influye en el microbioma intestinal de los lactantes en desarrollo, pero al parecer, las elecciones nutricionales parecen no determinar en gran medida la dirección en la que se producen dichos cambios.

En conclusión, los resultados del presente trabajo arrojan luz sobre los cambios que se producen en la microbiota del lactante con FQ al introducir los alimentos de la etapa de alimentación complementaria, e identifican que las recomendaciones dietéticas deben centrarse en qué alimentos se deberían consumir más que en la dosis de suplemento enzimático a administrar.

## 5. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a Ana por haberme dado la oportunidad de formar parte de uno de sus proyectos de investigación, por su amabilidad, profesionalidad y ayuda para llevar a cabo este proyecto.

Me gustaría dar las gracias en especial a Quim y Andrea, por hacerme sentir bienvenida desde el principio y ayudarme tanto, todas las horas que hemos compartido en el laboratorio me han hecho aprender mucho de ellos.

## 6. REFERENCIAS

Abrahamse, E., Minekus, M., van Aken, G. A., van de Heijning, B., Knol, J., Bartke, N., Oozeer, R., van der Beek, E. M., & Ludwig, T. (2012). Development of the Digestive System-Experimental Challenges and Approaches of Infant Lipid Digestion. *Food Digestion*, 3(1-3), 63-77. <https://doi.org/10.1007/s13228-012-0025-x>

Ahmed, J., & Ramaswamy, H. S. (2006). Viscoelastic and Thermal Characteristics of Vegetable Puree-Based Baby Foods. *Journal of Food Process Engineering*, 29(3), 219-233. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2006.00059.x>

Ahmed, J., & Ramaswamy, H. S. (2007). Dynamic rheology and thermal transitions in meat-based strained baby foods. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1274-1284. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.035>

Asensio-Grau, A., Peinado, I., Heredia, A., & Andrés, A. (2018). Effect of cooking methods and intestinal conditions on lipolysis, proteolysis and xanthophylls bioaccessibility of eggs. *Journal of Functional Foods*, 46, 579-586. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.025>

Asensio-Grau, A., Peinado, I., Heredia, A., & Andrés, A. (2019). In vitro study of cheese digestion: Effect of type of cheese and intestinal conditions on macronutrients digestibility. *LWT*, 113, 108278. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108278>

- Boon, M., Calvo-Lerma, J., Claes, I., Havermans, T., Asseiceira, I., Bulfamante, A., Garriga, M., Masip, E., van Schijndel, B. a. M., Fornes, V., Barreto, C., Colombo, C., Crespo, P., Vicente, S., Janssens, H., Hulst, J., Witters, P., Nobili, R., Pereira, L., ... Ribes-Koninckx, C. (2020). Use of a mobile application for self-management of pancreatic enzyme replacement therapy is associated with improved gastro-intestinal related quality of life in children with Cystic Fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 19(4), 562-568. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2020.04.001>
- Borowitz, D., Robinson, K. A., Rosenfeld, M., Davis, S. D., Sabadosa, K. A., Spear, S. L., Michel, S. H., Parad, R. B., White, T. B., Farrell, P. M., Marshall, B. C., & Accurso, F. J. (2009). Cystic Fibrosis Foundation Evidence-Based Guidelines for Management of Infants with Cystic Fibrosis. *The Journal of Pediatrics*, 155(6, Supplement), S73-S93. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.09.001>
- Bourlieu, C., Ménard, O., Bouzerzour, K., Mandalari, G., Macierzanka, A., Mackie, A. R., & Dupont, D. (2014). Specificity of infant digestive conditions: Some clues for developing relevant in vitro models. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(11), 1427-1457. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.640757>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Calvo Lerma, J. (2018). *Study of fat digestion in foods as an innovative approach to adjust pancreatic enzyme replacement therapy in Cystic Fibrosis* [Tesis doctoral, Universitat Politècnica de València]. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/106965>
- Calvo-Lerma, J., Asensio-Grau, A., Heredia, A., & Andrés, A. (2020a). Lessons learnt from MyCyFAPP Project: Effect of cystic fibrosis factors and inherent-to-food properties on lipid digestion in foods. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 133, 109198. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109198>
- Calvo-Lerma, J., Asensio-Grau, A., Heredia, A., & Andrés, A. (2020b). Screening the impact of food co-digestion on lipolysis under sub-optimal intestinal conditions. *LWT*, 118, 108792. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108792>
- Calvo-Lerma, J., Boon, M., Hulst, J., Colombo, C., Asseiceira, I., Garriga, M., Masip, E., Claes, I., Bulfamante, A., Janssens, H. M., Roca, M., Vicente, S., Fornés, V., Zazzeron, L., van Schijndel, B., Woodcock, S., Pereira, L., de Boeck, K., & Ribes-Koninckx, C. (2021). Change in Nutrient and Dietary Intake in European Children with Cystic Fibrosis after a 6-Month Intervention with a Self-Management mHealth Tool. *Nutrients*, 13(6), 1801. <https://doi.org/10.3390/nu13061801>
- Calvo-Lerma, J., Fornés-Ferrer, V., Heredia, A., & Andrés, A. (2018). In Vitro Digestion of Lipids in Real Foods: Influence of Lipid Organization Within the Food Matrix and Interactions with Nonlipid Components. *Journal of Food Science*, 83(10), 2629-2637. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14343>
- Calvo-Lerma, J., Fornés-Ferrer, V., Heredia, A., & Andrés, A. (2019). In vitro digestion models to assess lipolysis: The impact of the simulated conditions of gastric and intestinal pH, bile salts and digestive fluids. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 125, 108511. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108511>
- De Lisle, R. C., & Borowitz, D. (2013). The cystic fibrosis intestine. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(9), a009753. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009753>
- D'Haese, J. G., Ceyhan, G. O., Demir, I. E., Layer, P., Uhl, W., Löhr, M., Rychlik, R., Pirlis, K., Zöllner, Y., Gradl, B., Foerster, D., Möbius, J., Henniges, F., & Friess, H. (2014). Pancreatic enzyme replacement therapy in patients with exocrine pancreatic insufficiency due to chronic pancreatitis: A 1-year disease management study on symptom control and quality of life. *Pancreas*, 43(6), 834-841. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000131>
- Dodge, J. A., & Turck, D. (2006). Cystic fibrosis: Nutritional consequences and management. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 20(3), 531-546. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2005.11.006>
- Duytschaever, G., Huys, G., Bekaert, M., Boulanger, L., De Boeck, K., & Vandamme, P. (2011). Cross-sectional and longitudinal comparisons of the predominant fecal microbiota compositions of a group of pediatric patients with cystic fibrosis and their healthy siblings. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(22), 8015-8024. <https://doi.org/10.1128/AEM.05933-11>
- EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Castenmiller, J., de Henauw, S., Hirsch-Ernst, K.-I., Kearney, J., Knutsen, H. K., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J.,

- Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Bresson, J.-L., Fewtrell, M., Kersting, M., ... Turck, D. (2019). Appropriate age range for introduction of complementary feeding into an infant's diet. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 17(9), e05780. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5780>
- Freswick, P. N., Reid, E. K., & Mascarenhas, M. R. (2022). Pancreatic Enzyme Replacement Therapy in Cystic Fibrosis. *Nutrients*, 14(7), 1341. <https://doi.org/10.3390/nu14071341>
- Gan, J., Bornhorst, G. M., Henrick, B. M., & German, J. B. (2018). Protein Digestion of Baby Foods: Study Approaches and Implications for Infant Health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(1). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700231>
- Gelfond, D., Ma, C., Semler, J., & Borowitz, D. (2013). Intestinal pH and gastrointestinal transit profiles in cystic fibrosis patients measured by wireless motility capsule. *Digestive Diseases and Sciences*, 58(8), 2275-2281. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2209-1>
- Heredia, A., Asensio-Grau, A., Calvo-Lerma, J., & Andrés, A. (2021). Interactions Among Macronutrients and Their Effect on Lypolysis. En M. M.-L. Grundy & P. J. Wilde (Eds.), *Bioaccessibility and Digestibility of Lipids from Food* (pp. 151-168). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-56909-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-56909-9_9)
- Hernández-Olivas, E., Muñoz-Pina, S., García-Hernández, J., Andrés, A., & Heredia, A. (2022). Impact of common gastrointestinal disorders in elderly on in vitro meat protein digestibility and related properties. *Food Bioscience*, 46, 101560. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101560>
- Hoeh, A. G., Li, J., Moulton, L. A., O'Toole, G. A., Housman, M. L., Koestler, D. C., Guill, M. F., Moore, J. H., Hibberd, P. L., Morrison, H. G., Sogin, M. L., Karagas, M. R., & Madan, J. C. (2015). Associations between gut microbial colonization in early life and respiratory outcomes in cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics*, 167(1), 138-47.e1-3. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.02.049>
- Homann, C.-M., Rossel, C. A. J., Dizzell, S., Bervoets, L., Simioni, J., Li, J., Gunn, E., Surette, M. G., de Souza, R. J., Mommers, M., Hutton, E. K., Morrison, K. M., Penders, J., van Best, N., & Stearns, J. C. (2021). Infants' First Solid Foods: Impact on Gut Microbiota Development in Two Intercontinental Cohorts. *Nutrients*, 13(8), 2639. <https://doi.org/10.3390/nu13082639>
- Jiang, H., Gallier, S., Feng, L., Han, J., & Liu, W. (2022). Development of the digestive system in early infancy and nutritional management of digestive problems in breastfed and formula-fed infants. *Food & Function*, 13(3), 1062-1077. <https://doi.org/10.1039/d1fo03223b>
- Kristensen, M., Prevaes, S. M. P. J., Kalkman, G., Tramper-Stranders, G. A., Hasrat, R., de Winter-de Groot, K. M., Janssens, H. M., Tiddens, H. A., van Westreenen, M., Sanders, E. A. M., Arets, B., Keijsers, B., van der Ent, C. K., & Bogaert, D. (2020). Development of the gut microbiota in early life: The impact of cystic fibrosis and antibiotic treatment. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 19(4), 553-561. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2020.04.007>
- Langdon, A., Crook, N., & Dantas, G. (2016). The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Medicine*, 8(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0294-z>
- Li, L., & Somers, S. (2014). Digestive system dysfunction in cystic fibrosis: Challenges for nutrition therapy. *Digestive and Liver Disease*, 46(10), 865-874. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.06.011>
- Lindquist, S., & Hernell, O. (2010). Lipid digestion and absorption in early life: An update. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13(3), 314-320. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328337bbf0>
- Lluesa, J. H., López-Romero, L. C., Monzó, J. J. B., Marugán, M. R., Boyano, I. V., Rodríguez-Espinosa, D., Gómez-Bori, A., Orient, A. S., Such, R. D., Perez, P. S., & Jaras, J. H. (2022). Lipidic profiles of patients starting peritoneal dialysis suggest an increased cardiovascular risk beyond classical dyslipidemia biomarkers. *Scientific Reports*, 12(1), 16394. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20757-9>
- Ménard, O., Bourlieu, C., De Oliveira, S. C., Dellarosa, N., Laghi, L., Carrière, F., Capozzi, F., Dupont, D., & Deglaire, A. (2018). A first step towards a consensus static in vitro model for simulating full-term infant digestion. *Food Chemistry*, 240, 338-345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.145>
- Nishiyama, H., Nagai, T., Kudo, M., Okazaki, Y., Azuma, Y., Watanabe, T., Goto, S., Ogata, H., & Sakurai, T. (2018). Supplementation of pancreatic digestive enzymes alters the composition of

- intestinal microbiota in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(1), 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.130>
- Parkar, S. G., Rosendale, D. I., Stoklosinski, H. M., Jobsis, C. M. H., Hedderley, D. I., & Gopal, P. (2021). Complementary Food Ingredients Alter Infant Gut Microbiome Composition and Metabolism In Vitro. *Microorganisms*, 9(10), 2089. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102089>
- Pérez-Burillo, S., Molino, S., Navajas-Porras, B., Valverde-Moya, Á. J., Hinojosa-Nogueira, D., López-Maldonado, A., Pastoriza, S., & Rufián-Henares, J. Á. (2021). An in vitro batch fermentation protocol for studying the contribution of food to gut microbiota composition and functionality. *Nature Protocols*, 16(7), Article 7. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00537-x>
- Poquet, L., & Wooster, T. J. (2016). Infant digestion physiology and the relevance of in vitro biochemical models to test infant formula lipid digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(8), 1876-1895. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500883>
- Rivière, A., Selak, M., Lantin, D., Leroy, F., & De Vuyst, L. (2016). Bifidobacteria and Butyrate-Producing Colon Bacteria: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut. *Frontiers in Microbiology*, 7, 979. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00979>
- Turck, D., Braegger, C. P., Colombo, C., Declercq, D., Morton, A., Pancheva, R., Robberecht, E., Stern, M., Strandvik, B., Wolfe, S., Schneider, S. M., & Wilschanski, M. (2016). ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis. *Clinical Nutrition*, 35(3), 557-577. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.03.004>
- What is MyCyFAPP.* (s. f.). Recuperado 28 de enero de 2024, de <https://www.mycyfapp.eu/index.php/en/what-is-mycyfapp>
- Whitcomb, D. C., Bodhani, A., Beckmann, K., Sander-Struckmeier, S., Liu, S., Fuldeore, M., Pollack, P. F., & Khurmi, R. P. (2016). Efficacy and Safety of Pancrelipase/Pancreatin in Patients With Exocrine Pancreatic Insufficiency and a Medical History of Diabetes Mellitus. *Pancreas*, 45(5), 679-686. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000514>