

UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Curso de Medicina

**Edson Gabriel de Oliveira, Layla Cristina Barros Teixeira e
Melissa Mautoni M. Machado**

**RELAÇÃO ENTRE DISBIOSE INTESTINAL NOS BEBÊS SUJEITOS
AO DESMAME PRECOCE ANTES DO SEXTO MÊS DE VIDA E
DIABETES MELLITUS TIPO I**

São Paulo

2022

RESUMO

Introdução: A mucosa intestinal é colonizada significativamente após o início da amamentação pois o leite materno contém componentes bioativos que estimulam o crescimento de bactérias mutualísticas. A microbiota intestinal é importante para competir com possíveis microrganismos patogênicos além de diminuir o risco de doenças, entretanto, só 38% dos recém-nascidos no mundo são amamentados exclusivamente. **Objetivo:** O presente estudo visa comparar o desenvolvimento da microbiota intestinal nos recém-nascidos amamentados com leite materno e os que recebem fórmulas, e a sua relação com o Diabetes Mellitus tipo 1. **Métodos:** Trata-se de uma revisão integrativa da literatura com embasamento em artigos científicos publicados na plataforma Pubmed, entre os anos 2000 e 2022. **Resultado:** Será comparada a composição biológica do leite materno e do leite formulado, explorando as diferenças na colonização da microbiota intestinal do recém-nascido, além do desenvolvimento de Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1). **Discussão:** A substituição do leite materno por leite formulado favorece alterações no microbioma intestinal e o desenvolvimento de DM1, pois ao compararmos a microbiota de bebês alimentados com fórmula e os amamentados com leite materno foi possível identificar naqueles que receberam leite formulado uma disbiose, na qual foi ratificado uma associação direta com o diabetes tipo 1. Porém, ainda serão necessários mais estudos que explorem a relação entre o microbioma e a autoimunidade beta-pancreática para que sejam elaboradas terapêuticas preventivas e interventivas para o DM1 a partir da flora intestinal.

Descritores: Aleitamento materno, microbiota intestinal, fórmulas para lactentes, composto lácteo, leite materno, doenças autoimunes, disbiose.

ABSTRACT

Introduction: The intestinal mucosa is significantly colonized after the initiation of breastfeeding because breast milk contains bioactive components that stimulate the growth of mutualistic bacteria. The intestinal microbiota is crucial for competition with possible pathogenic microorganisms in addition to reducing the risk of diseases, however, only 38% of newborns in the world are exclusively breastfed. **Objective:** The present study aims to compare the development of the intestinal microbiota in breastfed and formula-fed newborns, and its relationship with type 1 Diabetes Mellitus. **Methods:** This is an integrative literature review based on scientific articles published on Pubmed platform, between 2000 and 2022. **Result:** The biological composition of breast milk and formulated milk will be compared, exploring the differences in the colonization of the newborn's intestinal mucosa, in addition to the development of Diabetes Mellitus type 1 (DM1). **Discussion:** Replacing breast milk with formulated milk favors changes in the intestinal microbiome and the development of DM1, because when comparing the microbiota of formula-fed and breast-fed babies, it was possible to identify a dysbiosis in those who received formula milk, in which a direct association with type 1 diabetes has been demonstrated. However, further studies are needed to explore the relationship between the microbiome and beta-pancreatic autoimmunity in order to develop preventive and interventional therapies for DM1 from the intestinal flora.

Keywords: Breastfeeding, intestinal microbiota, infant formula, dairy compound, breast milk, autoimmune diseases, dysbiosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	4
2 MÉTODO.....	8
2.1 Forma de Análise dos Resultados.....	9
3 RESULTADO.....	10
4 DISCUSSÃO.....	13
REFERÊNCIAS.....	15

1 INTRODUÇÃO

Até o presente momento a amamentação exclusiva até os seis meses de idade do lactente é a intervenção dietética mais efetiva na prevenção de infecções, morbidades e mortalidade infantil. Ao redor do mundo, de acordo com Martin e colegas, somente 38% dos recém-nascidos são exclusivamente amamentados até os seis meses de vida.⁸ No Brasil a taxa de aleitamento materno exclusivo entre crianças de 0 à 3 meses é apenas de 45% e entre a faixa etária de 4 à 6 meses a prevalência é ainda menor, cerca de 11%, segundo o Ministério da Saúde.

No artigo de *Henriques*, foram entrevistadas 23 mães que pararam de amamentar seus filhos aos quatro meses de idade, tendo como as causas mais comuns do desmame precoce, a impressão que o leite era insuficiente para a nutrição do bebê, a indisponibilidade da mãe e insegurança materna sobre a quantidade de leite que o bebê deveria ingerir durante a mamada.⁷ Ademais, o leite materno é utilizado como uma maneira de acalmar o recém-nascido a cada episódio de choro persistente, e o insucesso na ejeção do leite levou-as a interpretação de que o leite materno era insuficiente para suprir a fome da criança. A frequência dos episódios de choro intenso, de acordo com as mães entrevistadas, acontecem a noite e esse é o horário com menor produção de leite, reforçando ainda mais essa falsa percepção.

O aspecto do leite maduro (presente duas semanas após o parto) também contribui para o pensamento que o aleitamento exclusivo é insuficiente nutricionalmente e quantitativamente, pois tem uma aparência mais clara pela maior quantidade de água, necessária para manter a hidratação do recém-nascido.⁷

Desde 1960, mundialmente, houve uma diminuição na tendência de aleitamento materno exclusivo pela maior frequência de mulheres no mercado de trabalho e menor disponibilidade.⁷

Ademais, o marketing persistente e positivo das fórmulas por empresas que as produzem induzem as mães a pensarem que é uma boa opção quando na verdade só é recomendado para situações em que o bebê ou a mãe estão impossibilitados de realizar o aleitamento por questões de saúde. Ainda no estudo de *Henriques*, 20,1% das mães entrevistadas não amamentavam seus bebês por problemas de saúde (hipogalactia da puérpera, ingurgitamento mamário e doenças infecciosas que são transmitidas pelo leite materno como o HIV).⁷

Outra causa do baixo índice de amamentação é a via de parto, pois ao passarem pela cesariana as mães têm dificuldade em iniciar a lactação e obter o primeiro contato íntimo com seu filho logo após o parto (hora dourada) devido ao efeito de anestesia, sedação profunda, estresse da cirurgia e frustração (pela tentativa de um parto natural sem sucesso).⁷

A pega incorreta, pode levar à dificuldade de sucção por parte do bebê e conseqüentemente causar o aparecimento de lesões e dor nas mamas, levando a lactante a desistir da amamentação exclusiva.⁷

Os sentimentos de estresse, insegurança e ansiedade causados pela rotina do cuidado de um recém-nascido, quando exacerbado, podem inibir a liberação do leite pela diminuição da ação dos hormônios ocitocina e prolactina atuantes nessa ejeção.⁷

A preocupação com a perda da beleza dos seios e a vergonha de amamentar em público são outros fatores para algumas mulheres introduzirem a fórmula.⁷

O aleitamento é responsável pela maior parte do desenvolvimento da microbiota intestinal, onde os microrganismos ocupam rapidamente as mucosas intestinais e continuam a colonização até o primeiro ano de vida. Os componentes bioativos presentes no leite materno estimulam o crescimento de bifidobactérias (bactérias que consomem leite) no trato gastrointestinal (TGI). Enterococos e Estafilococos, inicialmente, são mais prevalentes no recém-nascido pelo alto teor de oxigênio no intestino, propiciando o

desenvolvimento de bactérias aeróbicas. Ao longo do tempo, o consumo de oxigênio pelas bactérias aeróbicas diminui a concentração de oxigênio no TGI, o que favorece o crescimento de bactérias anaeróbicas. As bactérias comensais anaeróbicas podem ser do tipo obrigatórias (Bifidobactérias, Bacteroides e Clostridium) ou facultativas (Lactobacilos).¹

O desenvolvimento da microbiota intestinal é importante para competir com possíveis microrganismos patogênicos que entrem em contato com o recém-nascido, além de outros benefícios, como a diminuição de risco de doenças autoimunes. A flora intestinal contribui para a sinalização imunológica e metabólica, secreção de toxinas, de ácidos graxos de cadeia curta e ácidos biliares, que estabelecem a regulação do apetite, do metabolismo e dos processos inflamatórios.¹⁴

São diversos fatores que colaboram para uma microbiota saudável, como: dieta materna, estilo de vida materno, idade materna, modo de parto, exposição a antibióticos e tipo de alimentação.¹⁴ Neste artigo vamos focar em discutir a influência do tipo de alimentação, especificamente, o aleitamento materno, na microbiota do infante e sua consequente suscetibilidade a diabetes tipo 1.

De fato, ao serem comparados recém-nascidos amamentados exclusivamente e os que consomem fórmula, podemos observar uma menor quantidade de bactérias patogênicas no segundo. Além disso, existe a associação entre o risco de Diabetes Mellitus tipo 1, Artrite Reumatóide, Lúpus Eritematoso, Doença Celíaca e Doença de Crohn com o desmame precoce.¹

O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune onde anticorpos aderem à receptores das células β das ilhotas pancreáticas, atraindo células T atópicas que danificam estas células secretoras de insulina, acarretando em uma deficiência insulínica. A Federação Internacional de Diabetes relatou que entre 2019 até Abril de 2022, 463 milhões de indivíduos foram diagnosticados com diabetes no mundo, sendo destes 1,1 milhão

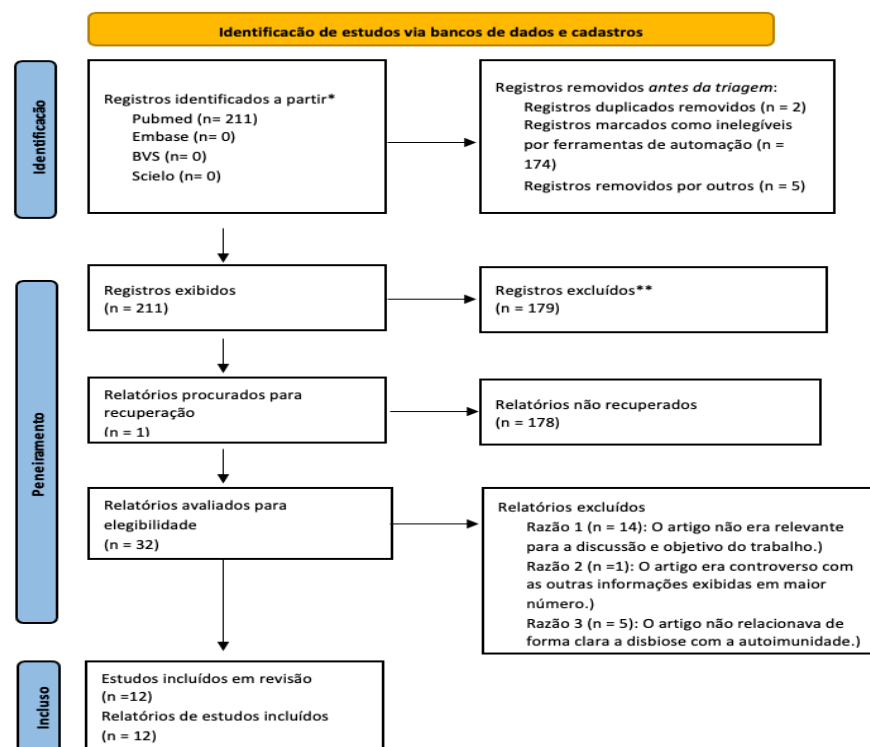
crianças e adolescentes.¹⁸ De acordo com Goffau, a incidência da diabetes tipo 1 também está aumentando em todo o mundo, especialmente em crianças menores de 5 anos.³ O intrigante desses dados é o fato de que a suscetibilidade genética não é suficiente para explicar o aumento da incidência de DM1, explica Zheng e colegas, possivelmente sendo justificado por alterações na microbiota intestinal devido ao número gradativamente maior de fatores ambientais que impactam o microbioma.¹⁷

Em vista disso, compreender melhor o mecanismo que desencadeia a DM1 a partir da disbiose é fundamental para prevenir novos casos da doença e suas complicações que podem ser agudas (cetoacidose diabética) ou crônicas (lesão de órgãos alvos), ou até mesmo a morte por níveis extremos de glicose no sangue.¹⁸ Ademais, entender a relação entre a disbiose e o desmame precoce pode ser mais um aliado na promoção de políticas de aleitamento para diminuir prevalência de diabetes tipo 1. O objetivo deste estudo é comparar o desenvolvimento da microbiota intestinal nos recém-nascidos amamentados com leite materno e os que recebem as fórmulas, e sua possível relação com o diabetes mellitus tipo 1.

2 MÉTODO

O presente estudo se deu através de revisão narrativa da literatura com embasamento em artigos científicos nacionais e internacionais indexados por instituições e organizações de pesquisa como a Scielo, Pubmed e Google Acadêmico entre os anos 2000 até Junho de 2021 com intuito de adquirir um maior conhecimento sobre a relação entre o aleitamento materno, microbiota intestinal, a introdução de leites formulados e doenças relacionadas. As palavras-chave utilizadas para busca dos cinquenta e dois artigos encontrados foram "aleitamento materno", "microbiota intestinal", "fórmulas para lactentes", "composto lácteo", "leite materno", "doenças autoimunes", "disbiose" segundo os descritores em Ciência em Saúde (DeCS). Dos cinquenta e dois escolhidos pelo título, trinta foram selecionados a partir da leitura do resumo e foram excluídos aqueles que não apresentavam informações pertinentes ao assunto abordado no trabalho.

Quadro 1- Seleção de artigos a partir do Fluxograma PRISMA: 2020



Fonte: (Prisma, 2020)

2.1 Forma de análise dos resultados

O resultado será analisado comparando a composição biológica do leite materno e a composição do leite formulado, explorando as diferenças entre seus efeitos na colonização da microbiota intestinal do recém-nascido, além de descrever as consequências de uma microbiota inadequada incluindo o desenvolvimento do diabetes tipo 1.

3 RESULTADOS

Embora ainda não esteja completamente definida a relação entre o desmame precoce e o diabetes, de acordo com TRIGR Study Group, a substituição do leite materno pelo consumo precoce de proteínas complexas na dieta, aumenta o risco de autoimunidade de células beta em crianças predispostas, levando ao desenvolvimento de diabetes tipo 1.^{8, 16}

A composição da microbiota intestinal de lactentes amamentados diverge daqueles alimentos com fórmula, em relação a diversidade e quantidade de bactérias, apresentando uma maior variabilidade de *Bifidobacterium* e uma maior concentração de *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium* e *Bacteroides*, o que caracteriza uma disbiose.¹¹

A disbiose que é caracterizada pelo microbioma anormal e está associada ao desenvolvimento de diabetes tipo 1, tem um papel crucial no desenvolvimento do sistema imune e no controle do nível glicêmico.^{6, 12}

Ao realizar um paralelo entre a microbiota de crianças diabéticas e de crianças saudáveis, Murri identificou um aumento na concentração das bactérias *Clostridium*, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Eggerthella* e *Bacillus*, em contrapartida observou uma diminuição de *Actinobacteria* e *Firmicutes*, além do desaparecimento de *Prevotella* e *Bifidobacterium*.¹²

As bactérias *Clostridium* cluster XIVa são mais numerosas em crianças saudáveis, em contrapartida as *Bacteroidetes* foram consideravelmente mais abundantes em crianças diabéticas da mesma faixa etária.³

Um mecanismo que explica a progressão para doenças autoimunes em crianças que possuem *Bacteroides* spp. (gênero do filo *Bacteroidetes*) em excesso, são os lipopolissacarídeos (LPS) secretados em quantidades intolerantes ao organismo por essas bactérias, o que inibe os sinais imunes inatos, acarretando em uma disfunção imunológica.¹⁸ Portanto, a demasia de *Bacteroidetes* é considerado um preditor útil para DM1.¹⁷

Segundo Morais e colegas, uma menor diversidade de *Bifidobacterium* pode culminar em um aumento de gordura corporal aos 18 meses de idade.¹¹

O aumento de tecido adiposo implica na maior secreção de leptina, uma substância pró-inflamatória que pode estimular a destruição imunológica das células beta-pancreáticas.²

Um outro estudo apontou uma relação entre a diminuição de bactérias *Faecalibacterium prausnitzii*, do filo *Firmicutes* em crianças portadoras de DM1, à partir da baixa secreção de butirato, substância produzida pelas *Faecalibacterium*, que mantém a integridade epitelial entérica e inibe atividades inflamatórias, favorecendo um estado inflamatório que predispõe um quadro de diabetes autoimune.³

O desequilíbrio da flora intestinal vem sendo amplamente relacionado a uma exacerbação do estado inflamatório do intestino, decorrente da liberação de citocinas, pelas células imunológicas, que provocam um aumento na permeabilidade da barreira entérica acarretando na translocação de bactérias e antígenos intestinais para o pâncreas lesionando as ilhotas de Langerhans.¹⁸ As citocinas identificadas em lactentes como causa da progressão de doenças autoimunes, inclusive diabetes tipo 1, foram as interleucinas (IL-6, IL-17, IL-22), fator de necrose tumoral- α (TNF α) e interferon- γ (IFN γ). A consequente translocação bacteriana para o pâncreas ativa as células TCD8+ que se proliferam e destroem as células infectadas para combater as bactérias, culminando na destruição das células beta-pancreáticas.⁶

Outra substância importante que atua sobre a manutenção da integridade da barreira do intestino, são os ácidos graxos de cadeia curta (produtos metabólicos microbianos intestinais), pois agem como reguladores da resposta imune e quando reduzidos em pacientes com DM1, por uma disbiose, aumentam a permeabilidade intestinal e consequentemente causam danos a parede entérica.¹⁸

Além disso, foi apontado que estes ácidos graxos de cadeia curta, especialmente o butirato e propionato, regulam a concentração de hormônios intestinais. Estes hormônios (grelina, peptídeo 1 semelhante a glucagon,

polipeptídeo insulíntrópico vinculado a glicose) realizam a manutenção do metabolismo de carboidratos. Sendo assim, o estudo de Murri e colegas ratificou que, de fato, os hormônios intestinais estão alterados em crianças diabéticas do tipo 1, demonstrando que existe uma relação reguladora entre a flora intestinal e os níveis glicêmicos através da produção de ácidos graxos.¹²

O leite materno contém, além de bactérias benéficas para o organismo humano, oligossacarídeos que moldam a microbiota intestinal em recém-nascidos.¹¹ A análise de amostras que comparavam a composição de leite materno equilibrado em relação a deficientes em oligossacarídeos do leite humano, foi identificado que a carência desse carboidrato predisponha níveis mais elevados de Proteobactérias e índices mais baixos de Firmicutes em bebês pré-termo.¹⁵ Em outras palavras, esse carboidrato do leite contribui para a imunidade através da microbiota e sua deficiência causa disbiose intestinal, pois são necessários para a proliferação de algumas bactérias no intestino. Sem uma microbiota saudável, não haverá um fortalecimento funcional de barreira entérica pois os subprodutos metabólicos favorecem a expressão das "tight junctions" entre as células intestinais.⁵

Durante a apuração de modelos de ratos foi encontrada uma diferença significativa na composição bacteriana do intestino moduladora do diabetes, exemplificando, mais uma vez, que uma microbiota saudável tem um efeito protetor, podendo retardar ou prevenir o desenvolvimento do diabetes tipo 1.¹²

4 DISCUSSÃO

Como demonstrado nos resultados deste presente estudo a introdução precoce de proteínas complexas na dieta dos recém nascidos substituindo o leite materno causa prejuízos, ligados ao desequilíbrio da microbiota que pode explicar o aumento da incidência de diabetes tipo 1. Sendo assim, a alteração do leite materno por leite formulado favorece o desenvolvimento de uma disbiose e conseqüentemente diabetes tipo 1, já que o microbioma intestinal atua na imunidade e no controle glicêmico.

De fato, foi evidenciado que as microbiotas de crianças saudáveis e diabéticas divergem, principalmente em sua composição e quantidade, aumentando a toxicidade intestinal, inibindo os sistema imunológico, diminuindo os metabolitos microbianos intestinais benéficos, alterando a concentração de hormônios intestinais e estimulando a secreção de substâncias pró-inflamatórias. Esses fatores irão provocar um enfraquecimento das junções de oclusão da parede epitelial entérica desencadeando um aumento na permeabilidade da barreira intestinal. Esse mecanismo culmina no deslocamento de bactérias do microbioma para o pâncreas, degradando as ilhotas de Langerhans, como foi melhor apresentado nos resultados.

Outro fator que também foi apontado através dos dados obtidos com essa pesquisa, foi a relação dos oligossacarídeos com o desenvolvimento microbiológico do intestino, pois a baixa quantidade desses carboidratos pode findar em uma disbiose. Como o leite formulado tem menor quantidade de oligossacarídeos disponíveis (somente dois tipos), entende-se que os bebês que recebem apenas fórmula terão uma maior tendência a ter um desequilíbrio microbiológico advindo na carência oligossacarídeo.⁴

Zheng e colegas também obtiveram que a microbiota intestinal seria a chave para a prevenção e o tratamento da diabetes tipo 1, sendo assim limitar o desenvolvimento de microrganismos vinculados a doenças ou promover

efetivamente a proliferação de bactérias protetoras deve impactar positivamente no tratamento e na prevenção da DM1.¹⁸

Através desse artigo, foi possível, realizar a comparação entre o microbioma de bebês alimentados com fórmula e os amamentados com leite materno, encontrando uma disbiose naqueles que receberam leite formulado. Além disso, trouxemos uma relação direta entre uma microbiota desequilibrada e o diabetes tipo 1. Entretanto, ainda precisam ser estabelecidos mais estudos que explorem a relação entre a microbiota e a autoimunidade beta-pancreática para que sejam desenvolvidas terapêuticas que previnam e tratem o diabetes tipo 1 a partir da flora bacteriana.

REFERÊNCIAS

1. Arslanoglu S, Moro GE, Boehm G. Early Supplementation of Prebiotic Oligosaccharides Protects Formula-Fed Infants against Infections during the First 6 Months of Life. *The Journal of Nutrition*. 2007 nov; 137(11): 2420–2424.
2. Chobot A, Górowska-Kowolik K, Sokołowska M, Jarosz-Chobot P. Obesity and diabetes-Not only a simple link between two epidemics. *Diabetes Metab Res Rev*. 2018 Oct;34(7):e3042. doi: 10.1002/dmrr.3042. Epub 2018 Jul 17. PMID: 29931823; PMCID: PMC6220876.
3. de Goffau MC, Fuentes S, van den Bogert B, Honkanen H, de Vos WM, Welling GW, Hyöty H, Harmsen HJ. Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia*. 2014 Aug;57(8):1569-77. doi: 10.1007/s00125-014-3274-0. Epub 2014 Jun 15. PMID: 24930037.
4. Donovan SM, Comstock SS. Human Milk Oligosaccharides Influence Neonatal Mucosal and Systemic Immunity. *Ann Nutr Metab*. 2016;69 Suppl 2(Suppl 2):42-51. doi: 10.1159/000452818. Epub 2017 Jan 20. PMID: 28103609; PMCID: PMC6392703.
5. Hayashi AA, Ferreira I, da Silva MC. Disbiose Intestinal e a Relação com a Patogênese de Doenças Autoimunes. [Revisão Bibliográfica]. Brasília: Centro Universitário De Brasília; 2020.
6. Henrick BM, Chew S, Casaburi G, Brown HK, Frese SA, Zhou Y, Underwood MA, Smilowitz JT. Colonization by *B. infantis* EVC001 modulates enteric inflammation in exclusively breastfed infants. *Pediatr Res*. 2019 Dec;86(6):749-757. doi: 10.1038/s41390-019-0533-2. Epub 2019 Aug 23. PMID: 31443102; PMCID: PMC6887859.
7. Henriques SN, María R. Aleitamento materno: O porquê do abandono. *Millenium*. 2011; 40: 39–51.
8. Knip M, Åkerblom HK, Becker D, Dosch HM, Dupre J, Fraser W, Howard N, Ilonen J, Krischer JP, Kordonouri O, Lawson ML, Palmer JP, Savilahti E, Vaarala O, Virtanen SM; TRIGR Study Group. Hydrolyzed infant formula and early β -cell autoimmunity: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2014 Jun 11;311(22):2279-87. doi: 10.1001/jama.2014.5610. PMID: 24915259; PMCID: PMC4225544.

9. Martin C, Ling PR, Blackburn G. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients*. 2016 may; 8(5): 279.
10. Ministério da Saúde, Saúde Nutricional, Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde. Saúde e Estado Nutricional de Crianças Menores de Cinco Anos: Centro Brasileiro de Análise e Planejamento; 2006. 583 p.
11. Morais J, Marques C, Teixeira D, Durão C, Faria A, Brito S, Cardoso M, Macedo I, Tomé T, Calhau C. FEEDMI: A Study Protocol to Determine the Influence of Infant-Feeding on Very-Preterm-Infant 's Gut Microbiota. *Neonatology*. 2019;116(2):179-184. doi: 10.1159/000496547. Epub 2019 May 27. PMID: 31132782.
12. Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, Queipo-Ortuño MI. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Med*. 2013 Feb 21;11:46. doi: 10.1186/1741-7015-11-46. PMID: 23433344; PMCID: PMC3621820.2
13. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. O comunicado do PRISMA 2020: uma diretriz atualizada para relatórios de revisões sistemáticas. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71
14. Soares RDC, Machado JP. Imunidade Conferida pelo Leite Materno. *ANAIS SIMPAC*. 2012; 4(1); 205-210.
15. Soderborg TK, Borengasser SJ, Barbour LA, Friedman JE. Microbial transmission from mothers with obesity or diabetes to infants: an innovative opportunity to interrupt a vicious cycle. *Diabetologia*. 2016 May;59(5):895-906. doi: 10.1007/s00125-016-3880-0. Epub 2016 Feb 2. PMID: 26843076; PMCID: PMC4829383.
16. Underwood MA, Gaerlan S, De Leoz ML, Dimapasoc L, Kalanetra KM, Lemay DG, German JB, Mills DA, Lebrilla CB. Human milk oligosaccharides in premature infants: absorption, excretion, and influence on the intestinal microbiota. *Pediatr Res*. 2015 Dec;78(6):670-7. doi: 10.1038/pr.2015.162. Epub 2015 Aug 31. PMID: 26322410; PMCID: PMC4689671.
17. Writing Group for the TRIGR Study Group, Knip M, Åkerblom HK, Al Taji E, Becker D, Bruining J, Castano L, Danne T, de Beaufort C, Dosch HM, Dupre J, Fraser WD, Howard N, Ilonen J, Konrad D, Kordonouri O, Krischer JP, Lawson ML, Ludvigsson J, Madacsy L, Mahon JL, Ormison A, Palmer JP, Pozzilli P, Savilahti E, Serrano-Rios M, Songini M, Taback S, Vaarala O, White NH, Virtanen SM, Wasikowa R. Effect of Hydrolyzed Infant Formula vs Conventional Formula on Risk of Type 1 Diabetes: The TRIGR Randomized

Clinical Trial. JAMA. 2018 Jan 2;319(1):38-48. doi: 10.1001/jama.2017.19826. PMID: 29297078; PMCID: PMC5833549.

18. Zheng P, Li Z, Zhou Z. Gut microbiome in type 1 diabetes: A comprehensive review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2018 Oct;34(7):e3043. doi: 10.1002/dmrr.3043. Epub 2018 Jul 17. PMID: 29929213; PMCID: PMC6220847.
19. Zheng SJ, Luo Y, Xiao JH. The Impact of Intestinal Microorganisms and Their Metabolites on Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2022 Apr 11;15:1123-1139. doi: 10.2147/DMSO.S355749. PMID: 35431564; PMCID: PMC9012311.