



STANDARDY MEDYCZNE

pediatria

pod patronatem



CENTRUM ZDROWIA DZIECKA

Reprint

**Oligosacharydy pokarmu kobiecego
– znane od lat, odkrywane na nowo**

Hanna Szajewska

Oligosacharydy pokarmu kobiecego – znane od lat, odkrywane na nowo

Human milk oligosaccharides – known for years, discovered again

Hanna Szajewska

Klinika Pediatrii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

STRESZCZENIE

Oligosacharydy pokarmu kobiecego (ang. human milk oligosaccharides, HMO) stanowią trzeci pod względem ilości składnik mleka matki. Szereg korzyści z karmienia piersią, zwłaszcza zmniejszenie ryzyka zakażeń przewodu pokarmowego, wiązanych jest z właściwościami HMO. Szacuje się, że w mleku matki występuje ok. 150 strukturalnie różnych HMO. Wśród ich potencjalnych działań istotne znaczenie mają właściwości prebiotyczne, antyadhezyjne i przeciwdrobnoustrojowe, a ponadto bezpośrednie oddziaływanie na komórki nabłonkowe jelita oraz wpływ na układ immunologiczny. Nowoczesne metody biotechnologiczne sprawiają, że możliwe jest wytwarzanie przynajmniej niektórych HMO w ilościach przemysłowych. Dwa oligosacharydy najczęściej występujące w mleku matki (2-fukozylolaktoza i lakto-N-neotetraoza) mogą być obecnie dodawane do mlek modyfikowanych. W artykule podsumowano najważniejsze dane dotyczące HMO – ich struktury, metabolizmu, funkcji. Przedstawiono również wyniki pierwszych badań dotyczących suplementacji mleka modyfikowanego aktualnie dostępnymi HMO.

Standardy Medyczne/Pediatria ■ 2018 ■ T. 15

SŁOWA KLUCZOWE: ■ NIEMOWLĘ ■ DZIECI ■ KARMIENIE PIERSIĄ ■ ŻYWIENIE ■ MLEKO MODYFIKOWANE ■ 2'-FUKOZYLOLAKTOZA ■ LAKTO-N-NEOTETRAOZA

ABSTRACT

Human milk oligosaccharides (HMOs) are the third largest component of human milk. Many benefits of breastfeeding, particularly protection against child infections, may be, at least partially, related to the presence of HMOs. Approximately 150 HMOs have been described. Among others, the postulated effects of HMOs include prebiotic and antiadhesive/antimicrobial effects, modulation of intestinal epithelial cells, and immune modulation. Progress in biotechnology nowadays allows the production of at least some HMOs. Two HMOs, 2-fucosylactose and lacto-N-neotetraose, which are also the most common in human breast milk, have recently been added to infant formula, either alone or in combination. This paper outlines the basic facts about HMOs (the composition, structure, metabolism, functions). It also discusses evidence on infant formulas supplemented with currently available HMOs.

Standardy Medyczne/Pediatria ■ 2018 ■ T. 15

KEY WORDS: ■ INFANT ■ CHILDREN ■ BREASTFEEDING ■ FEEDING ■ NUTRITION FORMULA ■ 2'-FUCOSYLLACTOSE ■ LACTO-N-NEOTETRAOSE

Wprowadzenie

Optymalnym sposobem żywienia dziecka w pierwszym okresie życia jest mleko matki. Celem, do którego należy dążyć, jest wyłączenie karmienia piersią przez pierwszych 6 miesięcy życia dziecka¹. Karmienie piersią wiąże się z wieloma korzyściami zdrowotnymi zarówno dla dziecka, jak i matki. Do najlepiej udokumentowanych należy rzadsze występowanie lub łagodniejszy przebieg zakażeń, zwłaszcza przewodu pokarmowego i dróg oddechowych². Za wyjątkowe właściwości pokarmu kobiecego mogą odpowiadać liczne biologicznie aktywne składniki, w tym m.in. laktoferyna, sekrecyjna immunoglobulina A (sIgA), enzymy, hormony, czynniki wzrostu^{1,3}. Szczególną rolę przypisuje się oligosacharydom pokarmu kobiecego (ang. *human milk oligosaccharides*, HMO)⁴. Angielski skrót HMO jest powszechnie stosowany w piśmiennictwie, stąd decyzja o jego użyciu również w niniejszej publikacji.



GŁÓWNE TEZY

- Wyjątkowe właściwości ochronne mleka kobiecego mają związek z obecnością w nim oligosacharydów.
- Dostępność nowych metod analitycznych pozwala na lepsze poznanie struktury oligosacharydów pokarmu kobiecego.
- Postęp naukowo-technologiczny umożliwia wytwarzanie przynajmniej niektórych oligosacharydów pokarmu kobiecego w ilościach przemysłowych, co potencjalnie stwarza nowe możliwości przybliżenia składu mleka modyfikowanego do mleka matki.

Zainteresowanie HMO sięga początku XX wieku⁴. Długo znane były głównie jako „czynnik bifidogenny”⁵, odpowiedzialny za przewagę bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* w stolcu niemowląt karmionych wyłącznie piersią⁶. Aktualnie obserwuje się renesans zainteresowania HMO. Składa się na to kilka czynników. Po pierwsze, do-

stępność nowych metod analitycznych, w tym wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (do rozdzielania oligosacharydów, a następnie ich identyfikacji). Ponadto nowe metody badawcze pozwalają na lepsze poznanie struktury HMO, ich funkcji i metabolizmu. Po drugie, rozwój nowoczesnych metod biotechnologicznych, które umożliwiają wytwarzanie przynajmniej niektórych HMO w ilościach przemysłowych. Wreszcie nie bez znaczenia jest pozytywna opinia instytucji opiniujących żywność odnośnie bezpieczeństwa suplementacji mleka modyfikowanego wybranymi HMO.

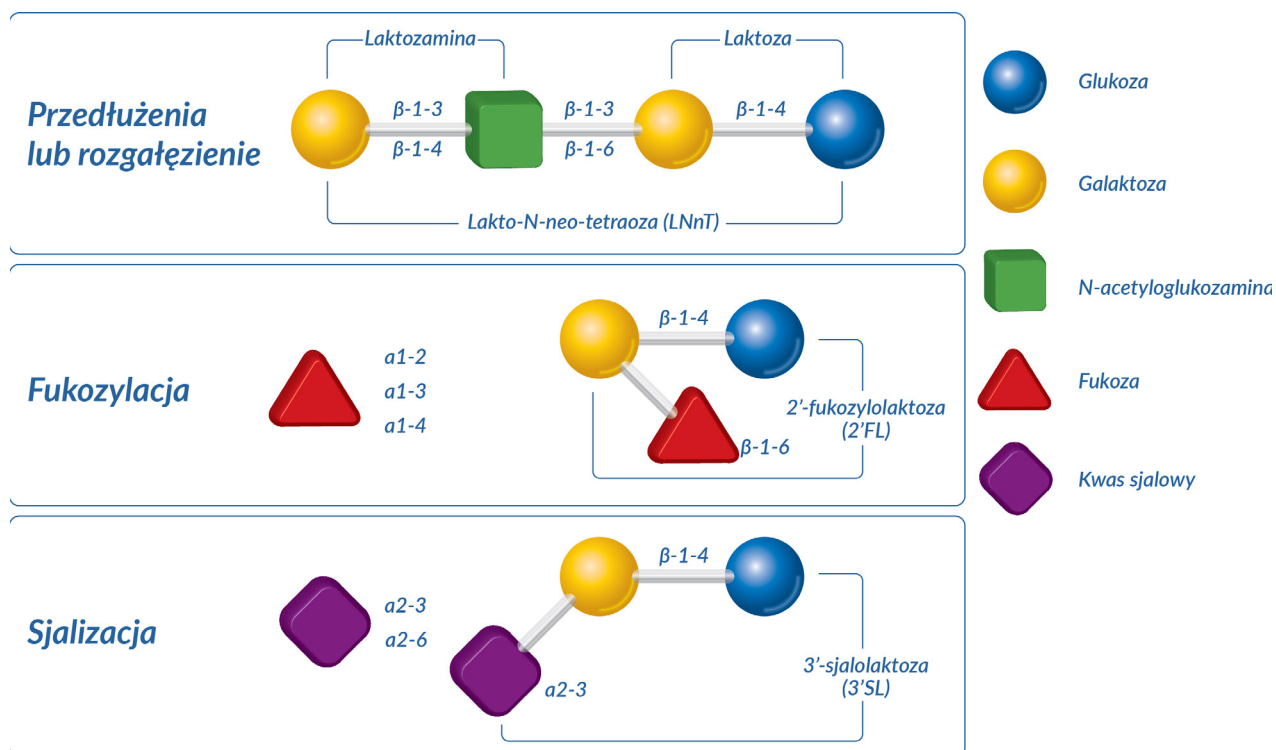
W artykule podsumowano aktualny stan wiedzy na temat HMO, ich składu, struktury, metabolizmu, funkcji. Przedstawiono również pierwsze dane dotyczące suplementacji mleka modyfikowanego aktualnie dostępnymi HMO. W celu identyfikacji odpowiednich publikacji przeszukano bazę PubMed (do lutego 2018 r., ze szczególnym uwzględnieniem publikacji z ostatnich 5 lat), korzystając ze słowa kluczowego: *human milk oligosaccharides*, HMO.

Co to są HMO?

HMO to złożone węglowodany, w skład których wchodzi: glukoza, galaktoza, N-acetyloglukozami-

na, fukoza i kwas sjałowy. HMO zawierają na redukcyjnym końcu dwucukier laktozę, składający się z galaktozy i glukozy, połączonych wiązaniem β -1,4-glikozydowym. Laktoza stanowi zatem szkielet wszystkich HMO, który może ulec przedłużeniu lub rozgałęzieniu, a następnie dodatkowo fukozytacji lub sjałizacji (**Rycina 1**)^{4,7}.

- Przedłużenie odbywa się poprzez połączenia β -1,3 (łańcuch typu 1) lub połączenia β 1-4 (łańcuch typu 2). W HMO występują głównie łańcuchy typu 1, które nie są rozszczepiane przez enzymy człowieka; w efekcie HMO mogą być wykorzystane przez drobnoustroje bytujące w przewodzie pokarmowym niemowlęcia, głównie z rodzaju *Bifidobacterium*. W przypadku łańcucha typu 2 u ludzi powszechnie występuje enzym β -galaktozydaza (laktaza). Może on spowodować hydrolizę laktozy wchodzącej w skład HMO, a tym samym dojdzie do powstania nowej struktury, trudniejszej do wykorzystania przez drobnoustroje.
- Rozgałęzienie odbywa się poprzez połączenia β -1,6.
- Przedłużanie lub rozgałęzianie może być powtarzane, czego efektem jest powstanie bardzo długich i/lub rozgałęzionych struktur.
- Fukozytacja oznacza przyłączenie się fukozy do laktozy (lub przedłużonych/rozgałęzionych oligosacharydów).



RYCINA 1. Struktura HMO. Wszystkie HMO zawierają laktozę, która może być przedłużona (n=0-15) lub rozgałęziona. Dodatkowo do laktozy (lub przedłużonych/rozgałęzionych oligosacharydów) może zostać przyłączona fukoza lub kwas sjałowy

charydów) poprzez połączenia α 1-2, α 1-3 lub α 1-4. Fukozylacja laktozy prowadzi do powstania odpowiednich trójsacharydów, takich jak np. 2'-fukozylolaktoza (2'-FL) lub 3'-fukozylolaktoza (3'-FL).

- Sjalozacja oznacza przyłączenie się kwasu sjalowego do laktozy (lub przedłużonych/rozgałęzionych oligosacharydów) poprzez połączenia α 2-3 lub α 2-6. Sjalozacja laktozy prowadzi do powstania odpowiednich trójsacharydów, takich jak np. 3'-sjalolaktoza (3'-SL) lub 6'-sjalolaktoza (6'-SL).

Szacuje się, że w pokarmie kobiecym znajduje się ok. 150 różnych HMO, zawierających od 3 do 21 monocukrów⁴. HMO można podzielić na grupy^{4,7}:

- neutralne (łącznie stanowiące ponad 75% wszystkich HMO)
 - fukozylowane, np. 2'-FL (ok. 35-50%),
 - niefukozylowane, np. LNnT (ok. 42-55%);
- kwaśne, sjalylowe, np. 3'-SL (ok. 12-14%).

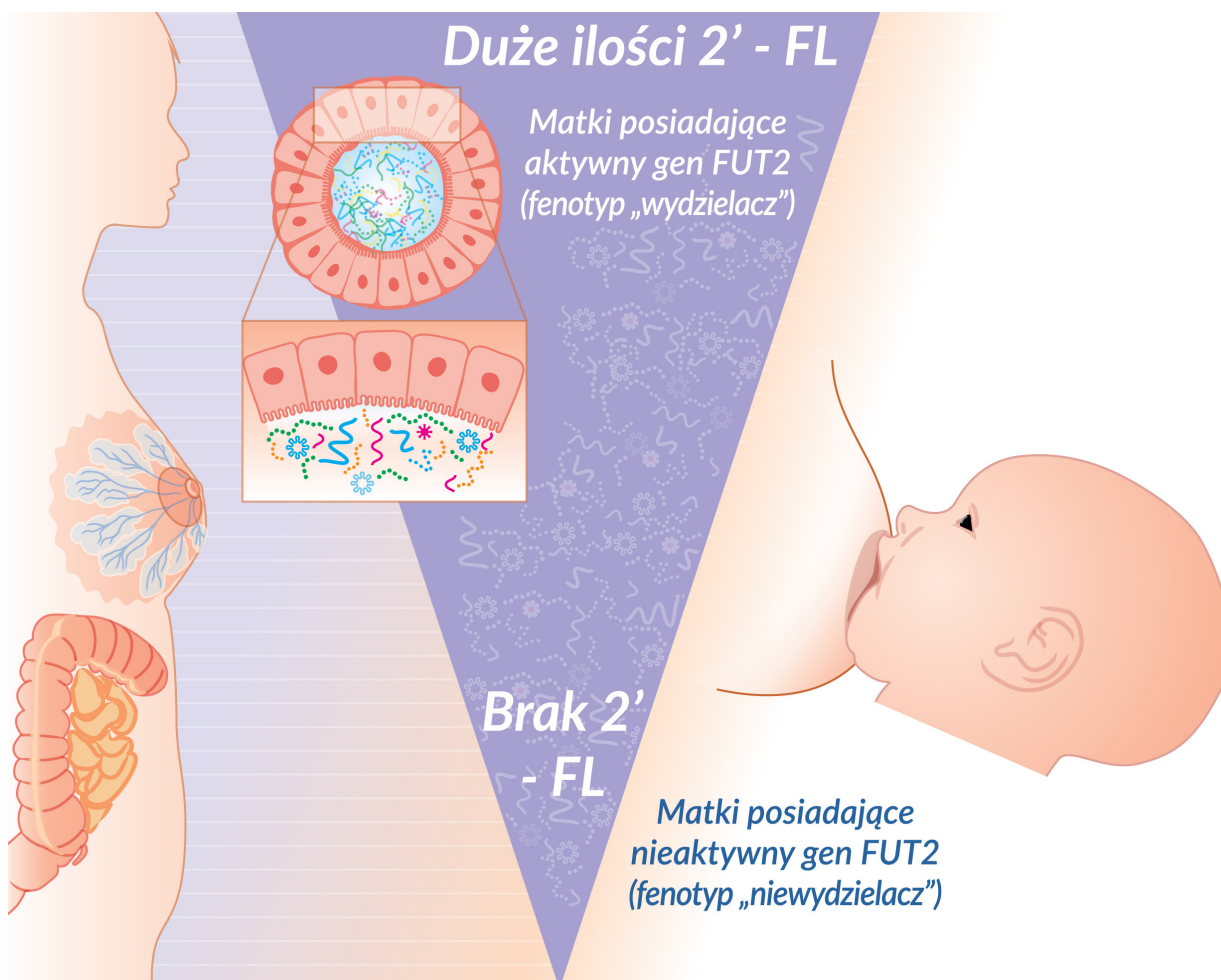
Każda matka wytwarza specyficzny dla siebie zestaw HMO. Na obecnym etapie wiedzy nie można stwierdzić, czy jakaś kompozycja HMO jest zdecydowanie lepsza niż inne.

Ilość HMO

Pod względem ilościowym HMO stanowią trzeci (po laktozie i tłuszczach) składnik pokarmu kobiecego. Stężenie HMO zależy od okresu laktacji: w sierzce wynosi ok. 20-30 g/l, a w dojrzałym mleku kobiecym – ok. 5-15 g/l⁴. Wpływ czasu trwania ciąży na stężenie HMO w mleku matki jest niejednoznaczny. Według niektórych danych wyższe stężenie HMO stwierdza się w mleku matki, która urodziła przedwcześnie^{8,9}; inne dane nie potwierdzają występowania różnic¹⁰. Rozważany jest ponadto wpływ takich czynników jak wysiłek fizyczny, masa ciała matki, dieta, papierosy, leki, ale dane są skąpe lub niejednoznaczne¹¹.

Rodzaj HMO

Obserwuje się istotne różnice populacyjne dotyczące składu HMO. Potwierdziły to wyniki badania przekrojowego, obejmującego 11 populacji (łącznie 410 zdrowych matek karmiących). Z jednym wyjątkiem (LNFP 1) stężenia wszystkich HMO znacząco się różniły. Dotyczyło to w szczególności stężenia 2'-FL¹².



RYCINA 2. Wpływ genotypu matki na rodzaj HMO w mleku matki (FUT2, fukozylotransferaza 2; 2'-FL, 2-fukozylolaktoza)

Aktywność fukozylotransferaz a struktura HMO

Znaczący wpływ na ilość i rodzaj HMO w pokarmie ma genetyka matki, w szczególności czynnik wydzielniczy oraz układ grupowy krwi Lewis. Struktura HMO jest zależna od ekspresji genu *FUT2* (kodującego α 1-2 fukozylotransferazę) oraz *FUT3* (kodującego α 1-3/4 fukozylotransferazę)^{4,7}. Obecność genu *FUT2*, związanego z czynnikiem wydzielniczym, stała się podstawą do podziału populacji ludzi na 2 grupy: wydzielaczy (*secretor*; Se+) oraz niewydzielaczy (*nonsecretor*; Se-). *FUT3* jest związany z antygenami grupowymi krwi Lewis (Le). Obecność genu *FUT3* jest podstawą do podziału populacji ludzi na 2 grupy: Le+ oraz Le-.

Na podstawie obecności i/lub braku produktów ekspresji genów *FUT2* i *FUT3* wyróżnia się 4 fenotypy^{4,7}:

- wydzielacz Se+/Le+ (ok. 70%);
- niewydzielacz Se-/Le+ (ok. 20%);
- wydzielacz Se+/Le- (ok. 9%);
- niewydzielacz Se-/Le- (ok. 1%).

W mleku matek o fenotypie „wydzielacz”, w porównaniu z mlekiem matek o fenotypie „niewydzielacz”, stwierdza się większe całkowite stężenie HMO oraz fukozylowanych HMO, w szczególności 2'-FL (**Rycina 2**). W mleku matek o fenotypie „niewydzielacz” praktycznie nie ma 2'-FL^{4,7}. Nie wiadomo, czy mleko matek o fenotypie „wydzielacz” daje dodatkowe korzyści, ale prawdopodobnie wpływa na hamowanie rozwoju norowirusów, *Campylobacter*, niektórych szczepów *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* oraz *Helicobacter pylori*^{13,14}.

Metabolizm HMO

Zasadniczo HMO wykazują oporność na działanie kwaśnego pH w żołądku, jak również na działanie enzymów trzustkowych i rąbka szczoteczki. Jeżeli ulegają degradacji (hydrolizie), to tylko w niewielkim stopniu. W obrębie jelita cienkiego ok. 1% HMO jest wchłanianych (transport w wyniku transcytozy lub międzykomórkowo)^{4,7,15}. Wchłonięte HMO pozostają w krwiobiegach przez kilka godzin, mogą wywierać działanie immunomodulujące, a następnie wydalane są z moczem. Przeważająca większość HMO w postaci niezmięnionej dociera jednak do jelita grubego, gdzie wybiórczo wykorzystywana jest przez znajdujące się tam drobnoustroje. Ok. 10-80% HMO jest wydalanych ze stolcem¹⁶⁻²².

Funkcje HMO

Funkcje HMO są przedmiotem wielu badań i dyskusji. Prawie wszystkie dane pochodzą z badań *in vitro*, *ex vivo* lub badań na zwierzętach^{4,7}.

■ Działanie prebiotyczne (Rycina 3a)

Zgodnie z aktualną (2017) definicją, prebiotyki to substraty selektywnie wykorzystywane

przez mikroorganizmy gospodarza, które wywierają korzystny efekt zdrowotny²³. Wymagania, które powinien spełnić substrat uznawany za prebiotyk, obejmują: oporność na działanie enzymów trawiennych; podatność na hydrolizę i fermentację w jelicie grubym; stymulowanie pożytecznych szczepów bakterii. Warunki te spełniają HMO. Obserwuje się zależność od struktury HMO. Na skład mikrobioty przewodu pokarmowego niemowlęcia będzie zatem wpływać profil HMO otrzymanych z pokarmem matki. W przewodzie pokarmowym niemowląt HMO stymulują rozwój wybranych bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, w szczególności *B. longum* subs. *infantis* (*B. infantis*), *B. breve* i *B. bifidum*^{24,25}. Bakterie te wytwarzają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe oraz inne metabolity (określane jako postbiotyki), które dodatkowo wpływają na mikrobiotę. Mniejsze ryzyko wystąpienia zakażeń przewodu pokarmowego u niemowląt karmionych wyłącznie piersią związane jest z mikrobiotą, będącą pod wpływem HMO^{4,7}.

■ Działanie antyadhezyjne, przeciwdrobnoustrojowe (Rycina 3b)

Adhezja to proces umożliwiający mikroorganizmom przyleganie do innych komórek, a w przypadku patogenów inicjację reakcji zapalnej. W adhezji istotną rolę odgrywają lektyny (glikańy) bakteryjne, mające zdolność swoistego rozpoznawania receptorów (cukrów lub substancji zawierających powierzchniowe oligosacharydy) na powierzchni komórek nabłonkowych. Ze względu na znaczne podobieństwo między receptorami na powierzchni komórek nabłonkowych człowieka a HMO istnieje możliwość zahamowania reakcji zapalnej wywołanej przez niektóre patogeny. HMO, funkcjonując jako „przynęty” („fałszywki”), wiążą patogeny, zapobiegając ich połączeniu z receptorem, a następnie kompleks drobnoustroj-HMO wydalany jest ze stolcem. Najlepiej udokumentowana jest rola 2'-FL w zapobieganiu zakażeniom wywołanym przez *Campylobacter jejuni*, co wykazano zarówno w badaniach *in vitro*¹³, jak i u ludzi. W badaniu obejmującym 93 pary matka karmiąca piersią – dziecko wykazano znamienne mniejsze ryzyko wystąpienia biegunki wywołanej przez *C. jejuni* u dzieci, które otrzymywały mleko matki zawierające duże ilości 2'-FL. W tym samym badaniu wykazano mniejsze ryzyko biegunki wywołanej przez *Calicivirus* w grupie dzieci otrzymujących mleko z dużą zawartością innego α 1-2 fukozylowanego HMO – lakto-N-difukoheksaozy (LDFH-I)²⁶. W badaniach *in vitro* wykazano, że HMO hamują również wzrastanie *Streptococcus agalactiae*, paciork-

kowca grupy B, bakterii odpowiedzialnej za większość przypadków wczesnych zakażeń u noworodków, w tym ciężkich zakażeń zagrażających życiu²⁷. Poza przewodem pokarmowym, HMO hamowały adhezję patogenów (bakterii, wirusów²⁸) do komórek nabłonkowych układu oddechowego oraz moczowego⁴.

■ **Bezpośredni wpływ na komórki nabłonkowe jelita (Rycina 3c)**

Wyniki badań *in vitro* wskazują, że HMO mogą wchodzić w bezpośrednią interakcję z komórkami nabłonkowymi jelita i wpływać na ekspresję

genów i zmianę ekspresji glikanów na powierzchni komórek nabłonkowych, co w efekcie utrudnia adhezję patogenów, uniemożliwiając zainicjowanie reakcji zapalnej^{4,7}.

■ **Wpływ na układ immunologiczny (Rycina 3d)**

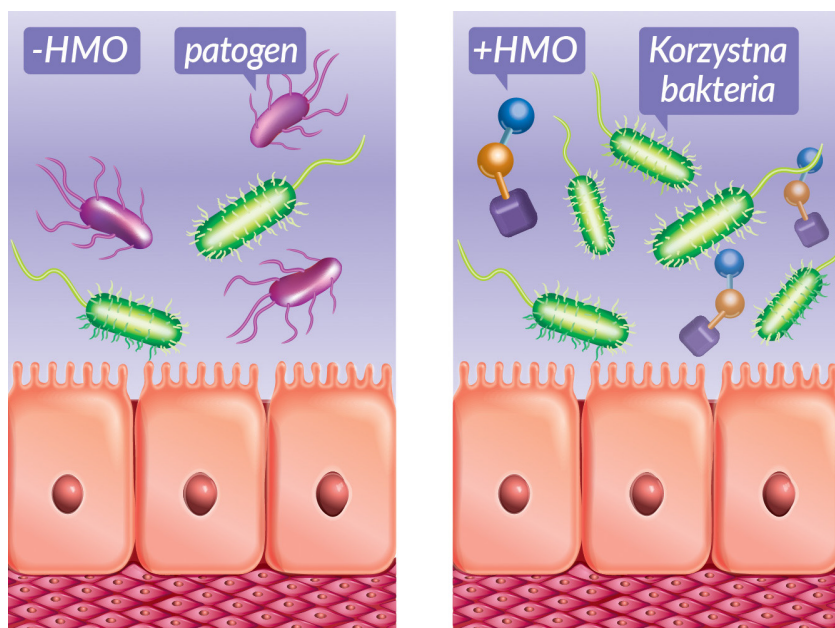
Na podstawie badań *in vitro* uważa się, że HMO mogą bezpośrednio modulować działanie układu odpornościowego na poziomie wewnątrzkomórkowym poprzez zmianę profilu wytwarzanych cytokin (np. aktywując procesy regulujące równowagę Th1/Th2), stymulację makrofagów, zmniejszenie przechodzenia leukocytów przez ściany małych naczyń krwionośnych (do tkanek, w których wystąpiło zapalenie) i ich aktywacji²⁹⁻³².

■ **Wpływ na rozwój mózgu**

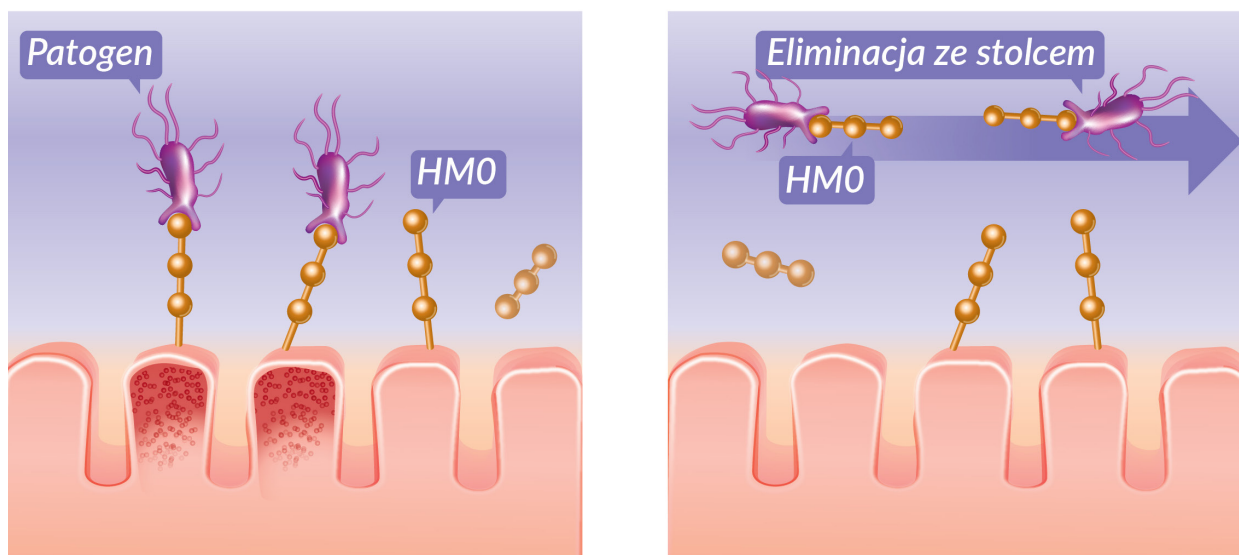
HMO są źródłem kwasu N-acetyleneuraminowego (sialowego), który jest potencjalnie ważnym składnikiem odżywczym, wpływającym na rozwój mózgu oraz czynności poznawczych^{4,7}.

Martwicze zapalenie jelit

U noworodków urodzonych przedwcześnie z bardzo małą masą ciała często występuje martwicze zapalenie jelit (ang. *necrotizing enterocolitis*, NEC). Choroba ta dotyczy ok. 5-10% wcześniaków i obciążona jest dużą śmiertelnością



A. Prebiotyki



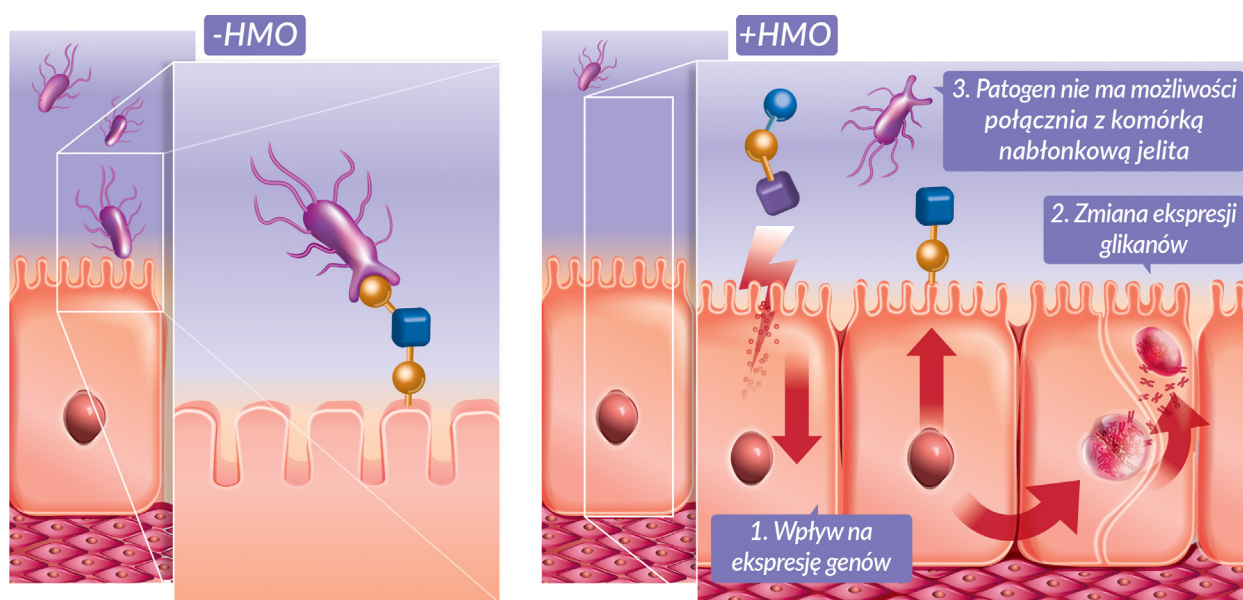
B. Antyadhezyjne, przeciwdrobnoustrojowe

RYCINA 3. Potencjalne efekty działania HMO

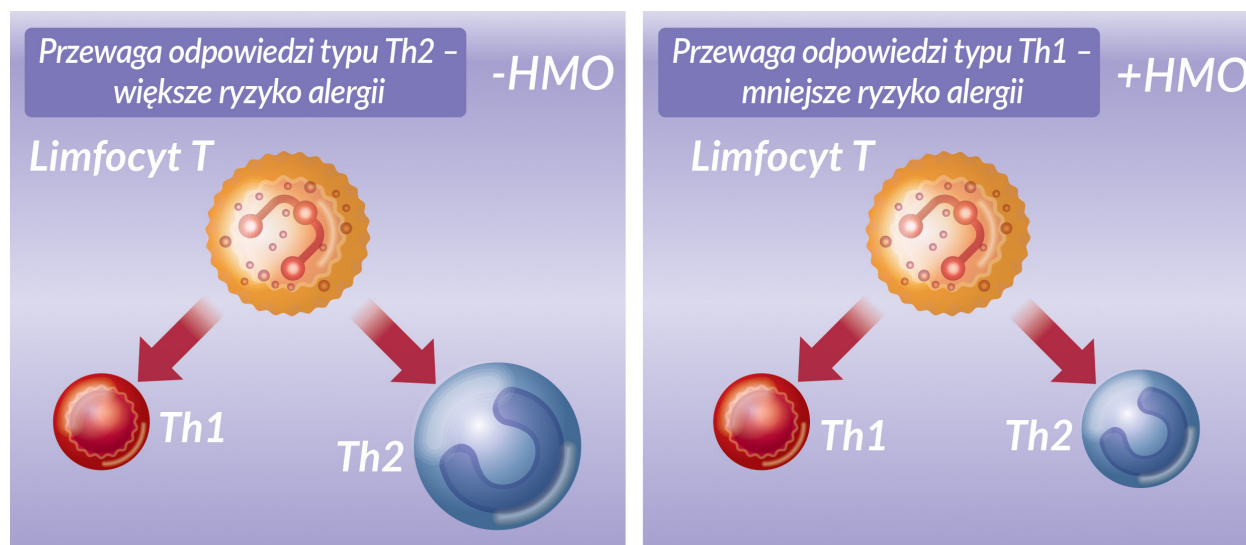
(ok. 20-30%). Jednym z czynników ryzyka NEC jest niedojrzałość jelit i karmienie sztuczne. Ryzyko wystąpienia NEC u wcześniaków karmionych sztucznie jest 6-10-krotnie wyższe niż w przypadku niemowląt karmionych mlekiem kobiecym^{33,34}. Jednak NEC może wystąpić nawet u wcześniaków otrzymujących pokarm kobiecy. Wyniki badania z randomizacją na zwierzętach wykazały, że stosowanie HMO zmniejsza ryzyko NEC. W modelu zwierzęcym skuteczność poszczególnych HMO była zróżnicowana. Za najlepszy efekt odpowiedzialna była disjallolakto-N-tetraoza (DSLNT), zawierająca 2 cząsteczki kwasu sjałowego³⁵. Kolejne badania na zwierzę-

tach wskazują, że podobny efekt może mieć również 2'-FL³⁶.

Znaczenie DSLNT oceniano także u ludzi. W prospektywnym badaniu obserwacyjnym u wcześniaków, obejmującym 200 par matka – dziecko, wykazano większe ryzyko wystąpienia NEC u niemowląt otrzymujących mleko matki z małą zawartością DSLNT, w porównaniu z mlekiem matek wcześniaków, u których nie wystąpiło NEC. Autorzy spekulują, że oznaczenie DSLNT może stanowić nieinwazyjny biomarker do identyfikacji niemowląt karmionych piersią, u których istnieje ryzyko wystąpienia NEC³⁷.



C. Działanie na komórki nabłonkowe jelita



D. Wpływ na układ immunologiczny

RYCINA 3. Potencjalne efekty działania HMO cd.



DO ZAPAMIĘTANIA

- Najlepiej udokumentowana korzyść z karmienia piersią to zmniejszenie ryzyka zakażeń.
- Szczególną rolę w ochronnym działaniu karmienia piersią przypisuje się oligosacharydom pokarmu kobiecego (ang. *human milk oligosaccharides*, HMO).
- HMO są złożonymi węglowodanami. Stanowią trzeci pod względem ilości składnik mleka matki.
- Szacuje się, że występuje ok. 150 różnych HMO.
- Skład i struktura HMO zależą od czynników genetycznych, zwłaszcza aktywności *FUT2* i *FUT3*, odpowiedzialnych za fukozylację.
- Na podstawie obecności i/lub braku produktów ekspresji genów *FUT2* i *FUT3* wyróżnia się kilka fenotypów.
- Najwięcej (ok. 70-80%) stanowią matki o fenotypie „wydzielacz” (aktywny gen *FUT2*). W mleku tych matek, w porównaniu z mlekiem matek o fenotypie „niewydzielacz”, stwierdza się większe całkowite stężenie HMO oraz fukozylowanych HMO, w szczególności 2'-FL.
- Każda matka wytwarza specyficzny dla siebie zestaw HMO.
- Wśród potencjalnych funkcji HMO istotne znaczenie mają: działanie prebiotyczne, antyadhezyjne i przeciwdrobnoustrojowe, bezpośrednie oddziaływanie na komórki nabłonkowe jelita oraz wpływ na układ immunologiczny.
- Wyniki badań na zwierzętach oraz obserwacyjnych par matka – wcześniak sugerują, że wybrane HMO mogą zmniejszać ryzyko wystąpienia martwiczego zapalenia jelit.
- Obecnie możliwa jest produkcja przynajmniej niektórych HMO (w tym 2'-FL i LNnT) w ilościach przemysłowych.
- Według EFSA i FDA, dodawanie 2'-FL i LNnT (oddzielnie lub łącznie) do mleka modyfikowanego jest bezpieczne.
- Oligosacharydy pokarmu kobiecego znane są od lat, ale wciąż odkrywane na nowo.

Komercyjnie dostępne HMO

Do niedawna HMO obecne były wyłącznie w mleku matki. Aktualnie na świecie jest kilka firm, które, stosując nowoczesne metody biotechnologiczne (np. syntezę chemoenzymatyczną, inżynierię metaboliczną drobnoustrojów oraz izolację od dawczyń mleka kobiecego), produkują wybrane HMO, w tym 2'-FL, 3'-FL, 6'-SL, LNnT³⁸. Wobec przemysłowo wytwarzanych HMO używa się terminu „syntetyczne HMO”, ale są to struktury identyczne z naturalnie występującymi HMO.

Mleko modyfikowane z 2'-FL i LNnT

Dostępność HMO sprawiła, że zainteresowane są nimi firmy produkujące mleko modyfikowane dla niemowląt. W efekcie na świecie dostępne są już mleka modyfikowane zawierające ww. HMO. Różnią się one od innych oligosacharydów, takich jak galaktooligosacharydy (GOS) i fruktooligosacharydy (FOS), które są obecne w wielu mlekach modyfikowanych. W odróżnieniu od HMO, prebiotyki ta-

kie jak GOS lub FOS nie występują w mleku kobiecym. Mają one jednak wiele dobrze udokumentowanych działań, w tym wpływ na mikrobiotę i konsystencję stolca³⁹.

Badania z randomizacją oceniające bezpieczeństwo stosowania mleka z HMO

Dostępne są już wyniki pierwszych badań z randomizacją oceniających bezpieczeństwo stosowania mleka modyfikowanego dla niemowląt suplementowanego 2'-FL i LNnT.

■ Suplementacja 2'-FL oraz LNnT

Celem badania była ocena wpływu suplementacji mleka modyfikowanego 2'-FL oraz LNnT na wskaźniki rozwoju fizycznego (pierwotny punkt końcowy). Do badania kwalifikowano zdrowe niemowlęta, urodzone w terminie porodu, w wieku ≤ 14 dnia życia. Dzieci spełniające kryteria włączenia przydzielano losowo do jednej z 2 grup, w których otrzymywały mleko początkowe dla niemowląt zawierające 2'-FL (1 g/l) oraz LNnT (0,5 g/l) (n = 88) lub standardowe mleko modyfikowane początkowe bez suplementacji (n = 87). Interwencja trwała 6 miesięcy; następnie do końca 1. roku życia wszystkie niemowlęta otrzymywały mleko następne bez suplementacji. Wyjściowo grupy objęte interwencją nie różniły się znamionnie pod względem cech klinicznych i demograficznych⁴⁰.

W grupie żywionej mlekiem suplementowanym 2'-FL i LNnT, w porównaniu z grupą żywioną standardowym mlekiem, stwierdzono:

- podobne przyrosty masy ciała w 4. m.ż. (pierwotny punkt końcowy), jak również pozostałe parametry antropometryczne (masa i długość ciała, obwód głowy oraz BMI – wszystkie wyrażone jako *z-score*) przez cały czas obserwacji;
- podobną tolerancję badanych mlek modyfikowanych.

Dodatkowo w grupie żywionej mlekiem suplementowanym 2'-FL i LNnT, w porównaniu z grupą żywioną standardowym mlekiem, stwierdzono mniejsze ryzyko wystąpienia objawów chorobowych raportowanych przez rodziców (wtórne punkty końcowe), w tym:

- mniejsze ryzyko zapalenia oskrzeli we wszystkich badanych przedziałach czasowych (0-4., 0-6., 0-12. m.ż.);
- mniejsze ryzyko zakażeń dolnych dróg oddechowych ocenianych w okresie 0-12. m.ż.;
- mniejsze zużycie antybiotyków (0-6. i 0-12. m.ż.);
- mniejsze zużycie leków przeciwgorączkowych (0-4. m.ż.).

Podsumowując, wyniki przedstawionego badania z randomizacją wykazały, że stosowanie mleka modyfikowanego 2'-FL i LNnT jest bezpieczne i dobrze tolerowane. Wyniki dotyczące mniejszego ryzyka

wystąpienia niektórych chorób oraz stosowania leków (antybiotyków, leków przeciwgorączkowych) wymagają potwierdzenia, ponieważ – należy to jeszcze raz podkreślić – były to wtórne punkty końcowe, raportowane przez rodziców (choć rozpoznania były weryfikowane przez zespół badawczy).

■ Suplementacja 2'-FL

Celem kolejnego badania z randomizacją była ocena wpływu mleka modyfikowanego suplementowanego 2'-FL na wskaźniki rozwoju fizycznego (pierwotny punkt końcowy)⁴¹. Do badania kwalifikowano zdrowe niemowlęta, urodzone z pojedynczej ciąży, z urodzeniową masą ciała ≥ 2490 g. Niemowlęta spełniające kryteria włączenia przydzielano losowo do jednej z 3 grup, w których otrzymywały (1) mleko początkowe dla niemowląt o wartości energetycznej 64,3 kcal/100 ml; (2) takie samo mleko zawierające 2'-FL w ilości 0,2 g/l lub (3) mleko zawierające 2'FL w ilości 1 g/l. Dodatkową grupę kontrolną stanowiły niemowlęta, które spełniały kryteria kwalifikujące do badania, ale były karmione wyłącznie piersią. Interwencja trwała do 119. d.ż. Wyjściowo grupy objęte interwencją nie różniły się znamionnie pod względem cech klinicznych i demograficznych. We wszystkich badanych grupach stwierdzono podobne przyrosty masy i długości ciała oraz obwodu głowy, zbliżone do stwierdzanych u niemowląt karmionych wyłącznie piersią. Mleka suplementowane 2'-FL były dobrze tolerowane. Wchłanianie 2'-FL było zbliżone do stwierdzanego u niemowląt karmionych piersią.

W oddzielnej publikacji autorzy przedstawili wyniki oceny profilu cytokin prozapalnych (IL-1ra, TNF- α , IL-1 α , IL-1 β). W obu grupach otrzymujących mleko suplementowane 2'-FL, w porównaniu z grupą otrzymującą mleko kontrolne, stężenie badanych cytokin było niższe i zbliżone do stężenia obserwowanego u niemowląt karmionych piersią. Podobne różnice stwierdzano w przeprowadzonej *ex vivo* stymulacji populacji jednojądrzastych komórek ludzkiej krwi obwodowej (PBMC) przez wirusy RSV⁴².

Podsumowując, wyniki przedstawionego badania z randomizacją wykazały, że stosowanie mleka modyfikowanego o obniżonej wartości energetycznej i zawierającego 2'-FL jest bezpieczne i dobrze tolerowane, a dodatkowo przybliży badane parametry immunologiczne do obserwowanych u niemowląt karmionych wyłącznie piersią. Do wyjaśnienia pozostaje, jakie jest kliniczne znaczenie obserwowanych różnic.

Opinie instytucji oceniających żywność

W krajach Unii Europejskiej opinie w kwestiach związanych z żywnością wydaje Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (European Food Safety Authority, EFSA). Decyzje, na podstawie opi-

nii EFSA, podejmuje Parlament Europejski. W Stanach Zjednoczonych zbliżoną funkcję pełni Agencja Żywności i Leków (Food and Drug Administration, FDA), przyznająca status „Uważane za bezpieczne” (Generally Recognized as Safe, GRAS)⁴³. Decyzje FDA mają moc wiążącą. Obie instytucje, niezależnie od siebie, potwierdziły bezpieczeństwo 2'-FL i LNnT, stosowanych oddzielnie lub łącznie, dodawanych do mleka modyfikowanego początkowego, następnego lub mleka dla małych dzieci (mleka typu junior)⁴⁴.

Podsumowanie

HMO mają wyjątkową strukturę i metabolizm. Nie mają znaczenia odżywczego dla niemowlęcia. Służą przede wszystkim wybiórczemu żywieniu niektórych drobnoustrojów, głównie *B. infantis*, *B. bifidum* i *B. breve*, zasiedlających przewód pokarmowy. Drobnoustroje te „odwdzięczają” się, modyfikując mikrobiotę i przyczyniając się do zmniejszenia ryzyka wystąpienia wielu chorób, przede wszystkim zakażeń przewodu pokarmowego. Biorąc pod uwagę liczbę HMO w pokarmie kobiecym, można zaryzykować twierdzenie, że stanowią one 150 powodów do karmienia piersią. Niemowlęta karmione sztucznie pozbawione są korzyści wynikających z obecności HMO. Jednak biotechnologia pozwala obecnie na produkcję przynajmniej niektórych HMO. Zaczynają być one dodawane do mleka modyfikowanego. W najbliższej przyszłości można oczekiwać kolejnych badań dotyczących HMO – ich składu, struktury, metabolizmu, funkcji, jak również badań dotyczących mleka modyfikowanego wzbogacanego w HMO. Reasumując, HMO znane są od lat, ale wciąż odkrywane na nowo.

prof. dr hab. n. med. Hanna Szajewska

✉ Klinika Pediatrii
Warszawski Uniwersytet Medyczny
02-091 Warszawa, Żwirki i Wigury 63A

hanna.szajewska@gmail.com

PIŚMIENICTWO

1. ESPGHAN Committee on Nutrition, Agostoni C, Braegger C, Decsi T i wsp. Breast-feeding: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49:112-125.
2. Victora CG, Bahl R, Barros AJ i wsp. Lancet Breastfeeding Series Group. Breast-feeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* 2016;387:475-490.
3. Ballard O, Morrow AL, Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am* 2013;60:49-74.
4. Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012;22:1147-1162.
5. Gyorgy P, Kuhn R, Rose CS i wsp. Bifidus factor. II. Its occurrence in milk from different species and in other natural products. *Arch Biochem Biophys* 1954;48:202-208.

6. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe* 2011;17:478-482.
7. Bode L, Jantscher-Krenn E. Structure-function relationships of human milk oligosaccharides. *Adv Nutr* 2012;3:383-391.
8. De Leoz ML, Gaerlan SC, Strum JS i wsp. Lacto-N-tetraose, fucosylation, and secretor status are highly variable in human milk oligosaccharides from women delivering preterm. *J Proteome Res* 2012;11:4662-4672.
9. Gabrielli O, Zampini L, Galeazzi T i wsp. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation. *Pediatrics* 2011;128:1520-1531.
10. Kunz C, Meyer C, Collado MC i wsp. Influence of Gestational Age, Secretor, and Lewis Blood Group Status on the Oligosaccharide Content of Human Milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;64:789-798.
11. Thurl S, Munzert M, Boehm G i wsp. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk. *Nutr Rev* 2017;75:920-933.
12. McGuire MK, Meehan CL, McGuire MA i wsp. What's normal? Oligosaccharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geographically. *Am J Clin Nutr* 2017;105:1086-1100.
13. Ruiz-Palacios GM, Cervantes LE, Ramos P i wsp. Campylobacter jejuni binds intestinal H(O) antigen (Fuc alpha 1, 2Gal beta 1, 4GlcNAc), and fucosyloligosaccharides of human milk inhibit its binding and infection. *J Biol Chem* 2003;278:14112-14120.
14. Coppa GV, Zampini L, Galeazzi T i wsp. Human milk oligosaccharides inhibit the adhesion to caco-2 cells of diarrheal pathogens: Escherichia coli, Vibrio cholerae, and Salmonella typhis. *Pediatric Research* 2006;59:377-382.
15. Bruggencate SJ, Bovee-Oudenhoven IM, Feitsma AL i wsp. Functional role and mechanisms of sialyllactose and other sialylated milk oligosaccharides. *Nutr Rev* 2014;72:377-389.
16. Garrido D, Dallas DC, Mills DA. Consumption of human milk glycoconjugates by infant-associated bifidobacteria: mechanisms and implications. *Microbiology* 2013; 159:649-664.
17. Ruiz-Moyano S, Totten SM, Garrido DA i wsp. Variation in consumption of human milk oligosaccharides by infant gut-associated strains of *Bifidobacterium breve*. *Appl Environ Microbiol* 2013;79:6040-6049.
18. Yu ZT, Chen C, Kling DE i wsp. The principal fucosylated oligosaccharides of human milk exhibit prebiotic properties on cultured infant microbiota. *Glycobiology* 2013;23:169-177.
19. Yu ZT, Chen C, Newburg DS. Utilization of major fucosylated and sialylated human milk oligosaccharides by isolated human gut microbes. *Glycobiology* 2013;23:1281-1292.
20. Marcobal A, Barboza M, Froehlich JW i wsp. Consumption of human milk oligosaccharides by gut-related microbes. *J Agric Food Chem* 2010;58:5334-5340.
21. Marcobal A, Sonnenburg JL. Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(Suppl. 4):12-15.
22. Ward RE, Ninonuevo M, Mills DA i wsp. In vitro fermentability of human milk oligosaccharides by several strains of bifidobacteria. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:1398-1405.
23. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME i wsp. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:491-502.
24. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe* 2011;17:478-482.
25. Sela DA, Mills DA. Nursing our microbiota: molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. *Trends Microbiol* 2010;18:298-307.
26. Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Altaye M i wsp. Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants. *J Pediatr* 2004;145:297-303.
27. Lin AE, Aufran CA, Szyszka A i wsp. Human milk oligosaccharides inhibit growth of group B Streptococcus. *J Biol Chem* 2017;292:11243-11249.
28. Morozov V, Hansman G, Hanisch FG i wsp. Human Milk Oligosaccharides as Promising Antivirals. *Mol Nutr Food Res* 2018 Jan 16; doi:10.1002/mnfr.201700679
29. Bode L, Kunz C, Muhly-Reinholz M i wsp. Inhibition of monocyte, lymphocyte, and neutrophil adhesion to endothelial cells by human milk oligosaccharides. *Thromb Haemost* 2004;92:1402-1410.
30. Bode L, Rudloff S, Kunz C i wsp. Human milk oligosaccharides reduce platelet-neutrophil complex formation leading to a decrease in neutrophil beta 2 integrin expression. *J Leukoc Biol* 2004;76:820-826.
31. Comstock SS, Wang M, Hester SN i wsp. Select human milk oligosaccharides directly modulate peripheral blood mononuclear cells isolated from 10-d-old pigs. *Br J Nutr* 2014;111:819-828.
32. Newburg DS, Tanritanir AC, Chakrabarti S. Lactodifucotetraose, a human milk oligosaccharide, attenuates platelet function and inflammatory cytokine release. *J Thromb Thrombolysis* 2016;42:46-55.
33. Nino DF, Sodhi CP, Hackam DJ. Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;13:590-600.
34. Meinzen-Derr J, Poindexter B, Wrage L i wsp. Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol* 2009;29:57-62.
35. Jantscher-Krenn E, Zhrebtsov M, Nissan C i wsp. The human milk oligosaccharide disialyllacto-N-tetraose prevents necrotizing enterocolitis in neonatal rats. *Gut* 2012;61:1417-1425.
36. Aufran CA, Schoterman MH, Jantscher-Krenn E i wsp. Sialylated galacto-oligosaccharides and 2'-fucosyllactose reduce necrotizing enterocolitis in neonatal rats. *Br J Nutr* 2016;116:294-299.
37. Aufran CA, Kellman BP, Kim JH i wsp. Human milk oligosaccharide composition predicts risk of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Gut* 2017 Apr 5. pii: gutjnl-2016-312819.
38. Bode L, Contractor N, Barile D i wsp. Overcoming the limited availability of human milk oligosaccharides: challenges and opportunities for research and application. *Nutr Rev* 2016;74:635-644.
39. Skórka A, Pieścik-Lech M, Kołodziej M i wsp. Infant formulae supplemented with prebiotics: Are they better than Q12 unsupplemented formulae? An updated systematic review. *Br J Nutr* 2018.
40. Puccio G, Alliet P, Cajozzo C i wsp. Effects of Infant Formula With Human Milk Oligosaccharides on Growth and Morbidity: A Randomized Multicenter Trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;64:624-631.
41. Marriage BJ, Buck RH, Goehring KC i wsp. Infants Fed a Lower Calorie Formula With 2'FL Show Growth and 2'FL Uptake Like Breast-Fed Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;61:649-658.
42. Goehring KC, Marriage BJ, Oliver JS i wsp. Similar to Those Who Are Breastfed, Infants Fed a Formula Containing 2'-Fucosyllactose Have Lower Inflammatory Cytokines in a Randomized Controlled Trial. *J Nutr* 2016;146:2559-2566.
43. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices>
44. EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies), 2015. Scientific opinion on the safety of 2'-O-fucosyllactose as a novel food ingredient pursuant to Regulation (EC) No 258/97. *EFSA Journal* 2015;13:4184,32 pp.

Notatki

A series of horizontal dotted lines for writing notes.

