

Przełomowa receptura z kompleksem 5-HMO – jeszcze bliżej mleka matki

NAN[®] SUPREME^{pro}

Aż 5 HMO
2'FL, DFL, LNT, 6'SL, 3'SL

L. reuteri
komfort jelitowy¹⁻³

DHA i ARA
DHA, ARA
niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 i omega-6

Gentle OPTIPRO[®]
proces częściowej hydrolizy białka

Nestlé NAN SUPREME^{pro} 1
5 HMO
DHA* L. reuteri GENTLE OPTIPRO[®]
ŻYWIENIE DLA PRZYSZŁOŚCI

Pierwsze mleko modyfikowane z kompleksem 5-HMO: 2' FL, DFL, LNT, 6' SL i 3' SL

- ✓ **Dominujących** w mleku kobiecym – ilościowo stanowią łącznie **ponad 40%***, 4-8
- ✓ Należących **do 3 rodzin HMO⁹**
- ✓ Dodane **w proporcjach** zbliżonych do HMO w mleku kobiecym¹⁰
- ✓ **Strukturalnie identycznych** z HMO w mleku matki¹¹⁻²⁰
- ✓ **Bezpiecznych** (US FDA, GRAS i EFSA)¹¹⁻²⁰

* 43,5% całkowitej zawartości 20 głównych HMO oznaczonych w mleku kobiecym.

1. Sovino i wsp. Lactobacillus reuteri DSM 17938 in infantile Colic: A randomized double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatric* 2010. 2. Coccorullo P. i wsp. Lactobacillus reuteri (DSM 17938) in infants with functional chronic constipation: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Pediatr* 2010; 157(4): 598-602. 3. Indiro F. i wsp. Lactobacillus reuteri accelerates gastric emptying and improves regurgitation in infants. *Eur J Clin Invest* 2010. 4. Samuel T.M. i wsp. *Sci Rep* 2019; 9 (1): 110. 5. Austin S. i wsp. *Nutrients* 2016; 8: 8 (6). 6. Austin S. i wsp. *Nutrients* 2019; 11 (6): 1282. 7. Sprenger N. i wsp. *Eur J Nutr* 2017; 56 (3): 1293-1301. 8. Lefebvre G. i wsp. *Front Nutr* 2020; 7: 574459. 9. Donovan S.M. i wsp. *Ann Nutr Metab* 2016; 69 (Suppl 2): 42-51. 10. Nestlé Dane wewnętrzne. 11. 2FL/DFL: Odpowiedź na zapytanie GRAS nr GRN000815, sierpień 2019. 12. LNT: Odpowiedź na zapytanie GRAS nr GRN000833, kwiecień 2020. 13. 3SL: Odpowiedź na zapytanie GRAS nr GRN000880, kwiecień 2020. 14. 6SL: Odpowiedź na zapytanie GRAS nr GRN000881, kwiecień 2020. 15. EFSA Journal 2019; 17 (6): 5717. 16. Rozporządzenie wykonawcze Komisji Europejskiej (EU) 2019/1979 z 26 listopada 2019 r. 17. EFSA Journal 2020; 18 (5): 6098. 18. EFSA Journal 2020; 18 (5): 6097. 19. Rozporządzenie wykonawcze Komisji Europejskiej (EU) 2020/484 z 2 kwietnia 2020 r. 20. EFSA Journal 2019; 17 (12): 5907.

Ważna informacja

Prawidłowe żywienie matki i jej dziecka w początkowym okresie życia jest kluczowe dla jego zdrowia w przyszłości. Najlepszym sposobem żywienia dziecka jest karmienie piersią. Mleko matki zapewnia niemowlęciu doskonale zbilansowaną dietę oraz chroni przed chorobami. Zdrowa dieta matki w czasie ciąży i po porodzie pomaga gromadzić składniki odżywcze niezbędne do prawidłowego przebiegu ciąży, przygotowuje do okresu laktacji i pomaga ją utrzymać. Decyzja o zaprzestaniu karmienia piersią jest trudna do odwrócenia. Dodatkowo, niesie ze sobą konsekwencje społeczne i finansowe. Niepotrzebne wprowadzanie częściowego dokarmiania butelką lub innych pokarmów i napojów ma negatywny wpływ na karmienie piersią. Jeśli matka decyduje, że nie będzie karmić piersią, ważne jest, by przekazać jej powyższe informacje i udzielić jej wskazówek dotyczących prawidłowego sposobu przygotowania mleka modyfikowanego. Należy podkreślić, że stosowanie nieprzepracowanej wody, niewysterylizowanej butelki lub nieprawidłowe rozcieńczenie może prowadzić do choroby.

KARMIEŃ PIERSIĄ JEST NAJLEPSZYM SPOSOBEM ŻYWIENIA NIEMOWLĄT

MATERIAŁ PRZEZNACZONY DLA PRACOWNIKÓW OCHRONY ZDROWIA

Oligosacharydy w pokarmie kobiecym i mleku modyfikowanym

Oligosaccharides in human milk and in infant formulas

Hanna Szajewska

Klinika Pediatrii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

STRESZCZENIE

Oligosacharydy pokarmu kobiecego (ang. *human milk oligosaccharides*, HMO) pod względem ilości stanowią trzeci składnik mleka matki. Ich obecność w znacznym stopniu decyduje o różnicach pomiędzy mlekiem kobiecym a mlekiem modyfikowanym. Nowoczesne metody biotechnologiczne pozwalają obecnie na produkcję przynajmniej niektórych HMO, w tym 2'fukozylolaktozy (2'FL) i lakto-N-neotetraozy (LNnT). W artykule podsumowano odpowiedzi na najczęściej zadawane pytania dotyczące HMO oraz omówiono wyniki pierwszych badań z randomizacją oceniających bezpieczeństwo i efekty kliniczne stosowania mleka dla niemowląt zawierającego 2'FL i LNnT.

Standardy Medyczne/Pediatria ■ 2019 ■ T. 16 ■ 809-815

SŁOWA KLUCZOWE: ■ ŻYWIENIE NIEMOWLĄT ■ KARMIENIE ■ POKARM MATKI ■ MLEKO MODYFIKOWANE

ABSTRACT

Human milk oligosaccharides (HMOs) are the third most abundant component of human milk. The presence of HMOs is one of the largest differences in the composition of breast milk and infant formula. Currently, biotechnology allows producing large amounts of HMOs such as 2-fucosyllactose (2'FL) and lacto-N-neotetraose (LNnT). This review provides answers to frequently asked questions related to HMOs in breast milk. It also discusses the results of the first randomized controlled trials evaluating the safety and efficacy of 2'FL and LNnT added to infant formulas.

Standardy Medyczne/Pediatria ■ 2019 ■ T. 16 ■ 809-815

KEY WORDS: ■ INFANT NUTRITION ■ FEEDING ■ HUMAN MILK ■ FORMULA

Wprowadzenie

Jeszcze kilka lat temu sporadycznie mówiło się na temat oligosacharydów pokarmu kobiecego (ang. *human milk oligosaccharides*, HMO). Jednak w ciągu ostatnich kilku lat badania nad nimi stały się jednym z wiodących tematów w żywieniu niemowląt. Dzieje się tak ze względu na rozwój metod analitycznych, pozwalających na lepsze poznanie struktury i właściwości HMO. Z drugiej strony, nowoczesne metody biotechnologiczne umożliwiają wytwarzanie przynajmniej niektórych HMO w dużych ilościach. W efekcie niektóre z HMO są dodawane do produktów zastępujących mleko kobiece.

W artykule podsumowano odpowiedzi na najczęściej zadawane pytania dotyczące HMO, w tym dane odnoszące się do:

1. HMO obecnych w mleku matki;
2. mechanizmów działania HMO;
3. badań obserwacyjnych oceniających powiązania pomiędzy specyficznymi oligosacharydami mleka matki a efektami klinicznymi;
4. badań z randomizacją dotyczących wybranych oligosacharydów dodawanych do mleka dla niemowląt.



GLÓWNE TEZY

- Niemowlęta, które nie mogą być karmione piersią, muszą otrzymywać bezpieczny produkt zastępujący mleko matki.
- Produkt zastępujący mleko matki powinien nie tylko naśladować składem pokarm kobiecy, lecz dodatkowo sprawiać, by tempo wzrastania oraz wskaźniki przemiany materii u żywionych nim niemowląt były maksymalnie zbliżone do obserwowanych u niemowląt karmionych wyłącznie piersią.
- Bezpieczeństwo i efekty kliniczne innowacyjnego mleka modyfikowanego muszą być potwierdzone wynikami wiarygodnych metodologicznie badań.

Oligosacharydy pokarmu kobiecego

Co to są oligosacharydy pokarmu kobiecego?

Oligosacharydy pokarmu kobiecego (HMO) to złożone węglowodany, w skład których wchodzi 5 monocukrów: glukoza, galaktoza, N-acetyloglukozamina, fukoza i kwas sjalowy. Pod względem ilości stanowią trzeci składnik mleka matki (więcej jest tylko laktozy i tłuszczów). Wytwarzane są wyłącznie w gruczołach piersiowych karmiącej matki^{1,2}.

Czy struktura wszystkich HMO jest taka sama?

Struktura HMO jest bardzo zróżnicowana. Wszystkie zawierają laktozę, składającą się z glukozy i galaktozy, połączonych wiązaniem β -1,4-glikozydowym. Może ona ulec przedłużeniu lub rozgałęzieniu. Przedłużenie odbywa się poprzez połączenia β -1,3 lub β -1,4; rozgałęzienie – poprzez połączenia β -1,6. Dwa kolejne procesy to fukozyłacja (przyłączenie fukozy przez połączenia α -1,2, α -1,3, α -1,4) oraz sjalizacja (przyłączenie kwasu sjalowego poprzez połączenia α -2,3, α -2,6). Rodzaj połączenia wpływa na strukturę i funkcje HMO. Wyróżnia się kilka grup HMO (**Tabela 1**)¹. Szacuje się, że w mleku matki znajduje się ok. 150-200 (dokładna liczba nie jest znana) strukturalnie różnych HMO^{1,2}.

Tabela 1. Rodzaje oligosacharydów mleka kobiecego (HMO)			
	HMO	Przykłady	Skrót
Neutralne	Fukozylowane	2'-fukozylolaktoza 3'-fukozylolaktoza	2'FL 3'FL
	Niefukozylowane	Lakto-N-neo-tetraoza	LNnT
Kwaśne	Sjalylowe	3'-sjalylolaktoza 6'-sjalolaktoza	3'SL 6'SL

Czy skład HMO u wszystkich matek jest taki sam?

Każda matka wytwarza specyficzny dla siebie zestaw HMO, zdeterminowany genetycznie (podobnie jak grupy krwi). Struktura HMO zależy od ekspresji genu *FUT2* (kodującego α -1-2-fukozylotransferazę) oraz *FUT3* (kodującego α -1-3/4-fukozylotransferazę)². Obecność genu *FUT2*, związanego z czynnikiem wydzielniczym, pozwala na wyodrębnienie wydzielaczy (ang. *secretor*, Se+) i niewydzielaczy (ang. *nonsecretor*, Se-). *FUT3* jest związany z antygenami grupowymi krwi Lewis (Le). Obecność genu *FUT3* jest podstawą do podziału na grupy Le+ i Le-. U ok. 70% matek występuje fenotyp Se+/Le+².

Czym różni się skład HMO w zależności od fenotypu?

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. 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*^{3,4}.

Jakie inne czynniki – poza profilem genetycznym matki – wpływają na HMO w mleku kobiecym?

Rozważany jest szereg czynników. Dobrze udokumentowane są różnice w ilości HMO w zależności od

okresu laktacji. Stężenie HMO jest największe w sianie – ok. 20-30 g/l. W dojrzalym mleku matki wynosi ok. 5-15 g/l⁵. Duży rozrzut wyników związany jest z brakiem standaryzacji metod analitycznych stosowanych w laboratoriach do oceny HMO. Dyskusyjny jest natomiast wpływ takich czynników jak²: czas trwania ciąży (wyniki badań dotyczących mleka matek, które urodziły przedwcześnie lub o czasie, są sprzeczne)⁶⁻⁸, wysiłek fizyczny, masa ciała matki, dieta matki, w tym ostatnio sugerowany wpływ spożycia probiotyków⁹, palenie papierosów, leki. Ponadto wyniki badania obejmującego 11 populacji wykazały istotne różnice populacyjne w składzie HMO. Dotyczyło to w szczególności stężenia 2'FL¹⁰.

Jak przebiega metabolizm HMO?

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. Przeważająca większość HMO w postaci niezmienionej dociera jednak do jelita grubego, gdzie wybiórczo wykorzystywana jest przez znajdujące się tam drobnoustroje. Ok. 10-80% HMO jest wydalanych ze stolcem¹¹⁻¹⁸.

Czy HMO mają znaczenie odżywcze dla niemowlęcia?

HMO nie mają znaczenia odżywczego dla niemowlęcia. Służą przede wszystkim wybiórczemu żywieniu niektórych drobnoustrojów, głównie *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum* i *Bifidobacterium breve*, zasiedlających przewód pokarmowy. Drobnoustroje te „odwdzięczają” się, modyfikując mikrobiotę i przyczyniając się do zmniejszenia ryzyka wystąpienia wielu chorób, przede wszystkim zakażeń przewodu pokarmowego. Przedmiotem badań pozostaje wpływ HMO na inne drobnoustroje obecne w przewodzie pokarmowym^{1,2}.

Dlaczego HMO są ważne?

U niemowląt karmionych piersią stwierdza się rzadsze występowanie lub łagodniejszy przebieg zakażeń, zwłaszcza przewodu pokarmowego i dróg oddechowych¹⁹. Odpowiadają za to liczne składniki o właściwościach odpornościowych, w tym m.in. laktoferyna, sekrecyjna immunoglobulina A, enzymy, hormony, czynniki wzrostu²⁰. Szczególną rolę przypisuje się HMO².

Mechanizm działania

Mechanizm działania HMO pozostaje przedmiotem wielu badań i dyskusji. Prawie wszystkie dane pochodzą z badań *in vitro*, *ex vivo* lub badań na zwierzętach².

- **Działanie prebiotyczne.** Jak wspomniano wcześniej, 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*^{21,22}. Bakterie te wytwarzają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe oraz inne metabolity (czasami określane jako postbiotyki), które dodatkowo wpływają na mikrobiotę.
- **Działanie antyadhezyjne, przeciwdrobnoustrojowe.** Adhezja umożliwia mikroorganizmom, w tym patogenom, przyleganie do innych komórek. W adhezji istotną rolę odgrywają lektyny (glikany) bakteryjne, mające zdolność swoistego rozpoznawania receptorów 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^{1,2}.
- **Bezpośredni wpływ na komórki nabłonkowe jelita.** Wyniki badań *in vitro* wskazują, że HMO mogą wchodzić w bezpośrednią interakcję z komórkami nabłonkowymi jelita i wpływać na ekspresję genów oraz zmianę ekspresji glikanów na powierzchni komórek nabłonkowych. Efektem jest utrudniona adhezja patogenów i brak możliwości zainicjowania reakcji zapalnej^{1,2}.
- **Wpływ na układ immunologiczny.** HMO mogą bezpośrednio modulować działanie układu odpornościowego na poziomie wewnątrzkomórkowym poprzez zmianę profilu wytwarzanych cytokin (np. aktywację procesów regulujących równowagę Th1/Th2), stymulację makrofagów, zmniejszenie przechodzenia leukocytów przez ściany małych naczyń krwionośnych (do tkanek, w których wystąpiło zapalenie) i ich aktywacji²³⁻²⁶.

Badania obserwacyjne – specyficzne oligosacharydy mleka matki a efekty kliniczne

Jakie są wyniki najważniejszych badań obserwacyjnych?

Przeprowadzono wiele badań obserwacyjnych, których celem była ocena związku pomiędzy stężeniem zarówno ogółu HMO, jak i specyficznych HMO w pokarmie matki a efektami klinicznymi istotnymi dla dziecka. Badania obserwacyjne są stosunkowo łatwe do przeprowadzania. Jednak pozwalają na ustalenie jedynie zależności (powiązań), ale nie dowodzą istnienia związku przyczynowo-skutkowego. Znaczenie tych badań wynika z faktu, że wskazują kierunki dalszych badań (również w kontekście wybra-

nych HMO dodawanych do produktów zastępujących mleko matki). Najważniejsze badania obserwacyjne dotyczyły²⁷:

- zakażeń przewodu pokarmowego – wykazano mniejsze ryzyko wystąpienia biegunki wywołanej przez *Campylobacter jejuni* u dzieci, które otrzymywały mleko matki zawierające duże ilości 2'FL oraz mniejsze ryzyko biegunki wywołanej przez *Calicivirus* w grupie dzieci otrzymujących mleko z dużą zawartością innego fukozylowanego HMO – lakto-N-difukoheksaozy I (LDFH-I)²⁸;
- alergii – wyniki badań nie są jednoznaczne, ale sugerują związek pomiędzy niektórymi HMO a zmniejszeniem ryzyka alergii, zwłaszcza u niemowląt urodzonych przez cięcie cesarskie²⁹;
- martwiczego zapalenia jelit – wyniki badań sugerują powiązania niskiego stężenia disialylo-lakto-N-tetraozy (DSLNT) w mleku matki z ryzykiem martwiczego zapalenia jelit u wcześniaków³⁰;
- nadwagi/otyłości – wyniki małego (n = 30) badania wykazały różnice w składzie HMO matek niemowląt karmionych piersią z prawidłowym i nadmiernym przyrostem masy ciała; w tym ostatnim przypadku stwierdzano wyższą zawartość 2'FL³¹.

Oligosacharydy w mieszankach dla niemowląt

Czy oligosacharydy mogą być dodawane do mleka modyfikowanego?

Oligosacharydy są dodawane do niektórych mlek modyfikowanych już od wielu lat. Najwcześniej dodawane były oligosacharydy prebiotyczne, takie jak galaktooligosacharydy (GOS) i fruktooligosacharydy (FOS). Od 2016 r. do mleka modyfikowanego dodawane mogą być również 2'FL i LNnT³². Dwie ważne instytucje, opiniujące w kwestiach związanych z żywnością [Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (European Food Safety Authority, EFSA³³) i Agencja Żywności i Leków (Food and Drug Administration, FDA)]³⁴, 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).

Czym różnią się HMO w mleku modyfikowanym od innych oligosacharydów obecnych w mleku modyfikowanym (np. GOS i FOS)?

W odróżnieniu od HMO, prebiotyki takie jak GOS lub FOS nie występują w mleku kobiecym. GOS i FOS to struktury liniowe; w przypadku HMO większość stanowią struktury rozgałęzione, decydujące o ich unikatowych właściwościach. Pomimo tych różnic GOS/FOS są bezpieczne i mają wiele dobrze udokumentowanych działań, w tym wpływ na mikrobiotę (rozwój bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*

i *Lactobacillus*) i konsystencję stolca oraz możliwy wpływ na ryzyko wystąpienia chorób alergicznych i infekcyjnych³⁵.

W jaki sposób uzyskiwane są 2'FL i LNnT?

Do niedawna uzyskanie HMO było bardzo trudne. Biotechnologia rozwija się jednak w błyskawicznym tempie. Aktualnie na świecie jest kilka firm, które stosując innowacyjne metody, w tym syntezę chemoenzymatyczną, inżynierię metaboliczną drobnoustrojów oraz izolację od dawczyń mleka kobiecego, produkują wybrane HMO, w tym 2'FL i LNnT, w bardzo dużych ilościach³⁶. Wobec biotechnologicznie wytwarzanych HMO używa się czasami terminu „syntetyczne HMO”, ale strukturalnie są one identyczne z naturalnie występującymi w pokarmie matki 2'FL i LNnT.

Czy możliwe jest wytwarzanie innych HMO?

Już teraz wytwarzane są inne HMO, w tym 3'-fukozylolaktoza, difukozyloaktoza, lakto-*N*-tetraoza, 6'-sialylaktoza, 3'-sialylaktoza. Można się spodziewać kolejnych HMO. Jest jednak mało prawdopodobne, aby w najbliższej przyszłości możliwe było wytworzenie wszystkich HMO obecnych w mleku matki.

Badania kliniczne oceniające skuteczność i bezpieczeństwo mleka modyfikowanego zawierającego 2'FL i LNnT

Jak ocenić skuteczność kliniczną i bezpieczeństwo 2'FL i LNnT?

Badanie z randomizacją, czyli takie, w którym badanych kwalifikuje się losowo do grupy eksperymentalnej poddawanej ocenianej interwencji lub do grupy kontrolnej, uznawane jest za model badania najbardziej wiarygodny w ocenie skuteczności i bezpieczeństwa różnych metod leczenia i profilaktyki³⁷⁻³⁹. W pierwszym etapie oceny każdej innowacji w preparatach zastępujących mleko matki badane jest bezpieczeństwo ich stosowania. Produkt zastępujący mleko matki powinien nie tylko naśladować składem pokarm kobiecy, lecz także dodatkowo sprawiać, by tempo wzrastania oraz wskaźniki przemiany materii u żywionych nim niemowląt były maksymalnie zbliżone do obserwowanych u niemowląt karmionych wyłącznie piersią.

Jakie są wyniki badań z randomizacją oceniających mleko modyfikowane zawierające 2'FL i LNnT?

Podsumowanie badań z randomizacją (stan na październik 2019) oceniających bezpieczeństwo i skuteczność stosowania mleka modyfikowanego dla niemowląt suplementowanego 2'FL i LNnT przedstawiono w **Tabeli 2**.

■ Suplementacja 2'FL oraz LNnT

Celem badania była ocena wpływu suplementacji mleka modyfikowanego 2'FL oraz LNnT na wskaź-

Tabela 2. Mleko modyfikowane zawierające 2'FL i LNnT – podsumowanie badań z randomizacją					
Autor	Populacja	Interwencje	Porównanie	Pierwotny punkt końcowy	Najważniejsze wyniki
Puccio i wsp. ⁴⁰	Zdrowe niemowlęta, urodzone w terminie, rekrutacja ≤ 14. dnia życia	Mleko modyfikowane + 2'FL/LNnT przez 6 miesięcy (n = 88); obserwacja – 12 miesięcy	Mleko modyfikowane (n = 87); grupa referencyjna – niemowlęta karmione piersią	Wskaźniki wzrastania	Prawidłowe wskaźniki rozwoju fizycznego; dobra tolerancja; mniejsze ryzyko wystąpienia niektórych chorób oraz stosowania leków (antybiotyków, leków przeciwwgorączkowych) – wtórne punkty końcowe, raportowane przez rodziców, wymagające potwierdzenia
Marriage i wsp. ⁴³	Zdrowe niemowlęta, urodzone w terminie, rekrutacja ≤ 14. d.ż.; urodzeniowa masa ciała ≥ 2490 g	Mleko modyfikowane + GOS 2,4 g/l + 2'FL 0,2 g/l (n = 62) Mleko modyfikowane + GOS 1,4 g/l + 2'FL 1 g/l (n = 59)	Mleko modyfikowane + GOS 2,4 g/l (n = 68); grupa referencyjna – niemowlęta karmione piersią (n = 65)	Wskaźniki wzrastania	Prawidłowe wskaźniki rozwoju fizycznego; dobra tolerancja
Goehring i wsp. ⁴⁴ – kohorta z badania powyżej				-	Parametry immunologiczne w grupach otrzymujących mleko z 2'FL zbliżone do obserwowanych u niemowląt karmionych wyłącznie piersią
Kaizer i wsp. ⁴⁵	Zdrowe niemowlęta, urodzone w terminie, rekrutacja < 8. d.ż.	Mleko modyfikowane + FOS 2 g/l + 2'FL 0,2 g/l (n = 35) – obserwacja 35 dni	Mleko modyfikowane (n = 30); referencyjna grupa karmionych piersią (n = 36)	Tolerancja	Podobne konsystencja stolca, spożycie mleka, parametry antropometryczne, odsetek karmień z ulewianiami/wymiotami. W grupie karmionej piersią, w porównaniu z dziećmi karmionymi mieszankami, większa liczba stolców/dobę

niki rozwoju fizycznego (pierwotny punkt końcowy). Do badania kwalifikowano zdrowe niemowlęta, urodzone w terminie, 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 znacząco pod względem cech klinicznych i demograficznych⁴⁰. W grupie żywionej mlekiem suplementowanym 2'FL i LNnT, w porównaniu z grupą żywioną mlekiem standardowym, stwierdzono:

- podobne przyrosty masy ciała w 4. miesiącu życia (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 oraz podobną tolerancję badanych mlek modyfikowanych.

Dodatkowo w grupie żywionej mlekiem suplementowanym 2'FL i LNnT, w porównaniu z grupą żywioną mlekiem standardowym, 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.).

Wyniki dotyczące mniejszego ryzyka wystąpienia niektórych chorób oraz stosowania leków (antybiotyków, leków przeciwgorączkowych) wymagają potwierdzenia, ponieważ były to wtórne punkty końcowe, raportowane przez rodziców (choć były weryfikowane przez zespół badawczy). Na szczególną uwagę zasługuje wpływ na stosowanie antybiotyków, zwłaszcza w kontekście dyskusji na temat związków pomiędzy antybiotykoterapią we wczesnym okresie życia a ryzykiem chorób (w tym otyłości i alergii) w późniejszym okresie życia^{41,42}.

■ Suplementacja 2'FL

Celem badania z randomizacją była ocena wpływu mleka modyfikowanego suplementowanego 2'FL na wskaźniki rozwoju fizycznego (pierwotny punkt końcowy). 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 zawierające GOS,

o wartości energetycznej 64,3 kcal/100 ml; (2) takie samo mleko zawierające dodatkowo 2'FL w ilości 0,2 g/l lub (3) mleko zawierające 2'FL w ilości 1 g/l. Grupę referencyjną 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 znacząco 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 piersią⁴³. W oddzielnej publikacji autorzy przedstawili wyniki oceny profilu cytokin prozapalnych (IL-1ra, TNF- α , IL-1 α , IL-1 β) dokonanej u części badanych. 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 RSV⁴⁴. Do wyjaśnienia pozostaje kliniczne znaczenie obserwowanych różnic.

W kolejnym badaniu potwierdzono dobrą tolerancję mleka modyfikowanego z 2'FL i GOS (odpowiednio: 0,2 g/l i 2 g/l). Oceniano konsystencję stolca, spożycie mleka, parametry antropometryczne, odsetek posiłków z towarzyszącymi ulewaniem/wymiotami⁴⁵.

Czy 2'FL lub LNnT mogą być dodawane do hydrolizatów białka?

Aktualnie dostępne są wyniki 2 badań, w których 2'FL i LNnT dodawane były do hydrolizatów o nieznacznym oraz znacznym stopniu hydrolizy białka^{46,47}.

■ Hydrolizat białek serwatki o nieznacznym stopniu hydrolizy zawierający 2'FL

W badaniu z randomizacją, do którego kwalifikowano niemowlęta poniżej 2. tygodnia życia, oceniano wpływ stosowania przez 6 tygodni hydrolizatu serwatki o nieznacznym stopniu hydrolizy z probiotykiem *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb12 (grupa kontrolna) w porównaniu z takim samym hydrolizatem zawierającym dodatkowo 2'FL (grupa eksperymentalna). W grupie eksperymentalnej, w porównaniu z grupą kontrolną, stwierdzono podobną tolerancję obu preparatów ocenianą z zastosowaniem kwestionariusza IGSG (ang. *Infant Gastrointestinal Symptom Questionnaire*). Kwestionariusz ten uwzględnia wypróżnienia, wymioty, ulewanie, grymaszenie⁴⁶.

■ Hydrolizat białek serwatki o znacznym stopniu hydrolizy zawierający 2'FL i LNnT

Wyniki badania z randomizacją, którym objęto dzieci w wieku 2 miesięcy-4 lat z alergią na białka mle-

ka krowiego (n = 67), potwierdzoną podwójnie ślepa, kontrolowaną placebo próbą prowokacji, potwierdziły hipoalergenowość hydrolizatu białek serwatki (100%) o znacznym stopniu hydrolizy zawierającego 2'FL i LNnT. Uznaje się, że preparat spełnia warunki hipoalergenowości, jeżeli jest dobrze tolerowany przez co najmniej 90% chorych (z 95% przedziałem ufności). Liczebność badanej populacji wynika z liczby uczestników badania, u których stwierdza się brak tolerancji preparatu (28 uczestników, jeżeli nie ma niepożądanego reakcji; 46 uczestników, jeżeli stwierdza się 1 niepowodzenie; 61 uczestników, jeżeli stwierdza się 2 przypadki braku tolerancji preparatu)⁴⁷.

Podsumowanie

W Polsce dostępne jest już mleko modyfikowane zawierające 2'FL i LNnT. Dla lekarza praktyka ważna jest zatem odpowiedź na pytanie, czy i kiedy stosować takie mleko. Pierwszym wyborem pozostaje oczywiście karmienie piersią. Jeżeli nie jest możliwe, podobnie jak ma to miejsce w przypadku każdej interwencji, warto omówić z rodzicami, czy spodziewane korzyści są zgodne z ich oczekiwaniami i warte poniesionych kosztów. Omówienie przedstawionych badań powinno ułatwić taką rozmowę.

prof. dr hab. n. med. Hanna Szajewska

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

hanna.szajewska@wum.edu.pl

PIŚMIENNICTWO

- Bode L, Jantscher-Krenn E. Structure-function relationships of human milk oligosaccharides. *Adv Nutr* 2012;3:383-391.
- Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012;22:1147-1162.
- 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.
- 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 typhi. *Pediatric Research* 2006;59:377-382.
- Thurl S, Munzert M, Boehm G i wsp. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk. *Nutr Rev* 2017;75:920-933.
- 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.
- Gabrielli O, Zampini L, Galeazzi T i wsp. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation. *Pediatrics* 2011;128:1520-1531.
- 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.



DO ZAPAMIĘTANIA

- Badania dotyczące oligosacharydów pokarmu kobiecego (HMO) są jednym z wiodących tematów w żywieniu niemowląt.
- Nowoczesne metody biotechnologiczne pozwalają na produkcję przynajmniej niektórych HMO, w tym 2'-fukozylo-laktozy (2'FL) i lakto-N-neotetraozy (LNnT).
- Bezpieczeństwo 2'FL i LNnT, stosowanych oddzielnie lub łącznie, dodawanych do mleka modyfikowanego, zostało potwierdzone m.in. przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA).

- Seppo AE, Kukkonen AK, Kuitunen M i wsp. Supplementation With Human Milk Oligosaccharide Composition. *JAMA Pediatrics* 2019;173:286-288.
- 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.
- ten 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.
- Garrido D, Dallas DC, Mills DA. Consumption of human milk glycoconjugates by infant-associated bifidobacteria: mechanisms and implications. *Microbiology* 2013;159:649-664.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Marcobal A, Sonnenburg JL. Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(Suppl. 4):12-15.
- 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.
- Victoria CG, Bahl R, Barros AJ i wsp. Lancet Breastfeeding Series Group. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* 2016;387:475-490.
- Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am* 2013;60:49-74.
- 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.
- Sela DA, Mills DA. Nursing our microbiota: molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. *Trends Microbiol* 2010;18:298-307.
- 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.
- 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.

- ²⁵ 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.
- ²⁶ 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.
- ²⁷ Doherty AM, Lodge CJ, Dharmage SC i wsp. Human Milk Oligosaccharides and Associations With Immune-Mediated Disease and Infection in Childhood: A Systematic Review. *Front Pediatr* 2018;6:91.
- ²⁸ Morozov V, Hansman G, Hanisch FG i wsp. Human milk oligosaccharides as promising antivirals. *Mol Nutr Food Res* 2018;62:e1700679.
- ²⁹ Korpela K, Salonen A, Hickman B i wsp. Fucosylated oligosaccharides in mother's milk alleviate the effects of caesarean birth on infant gut microbiota. *Sci Rep* 2018;8:13757.
- ³⁰ Autran CA, Kellman BP, Kim JH i wsp. Human milk oligosaccharide composition predicts risk of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Gut* 2018;67:294-299.
- ³¹ Larsson MW, Lind MV, Laursen RP i wsp. Human Milk Oligosaccharide Composition Is Associated With Excessive Weight Gain During Exclusive Breastfeeding-An Explorative Study. *Front Pediatr* 2019;7:297.
- ³² Vandenplas Y, Berger B, Carnielli VP i wsp. Human Milk Oligosaccharides: 2'-Fucosyllactose (2'-FL) and Lacto-N-Neotetraose (LNnT) in Infant Formula. *Nutrients* 2018;10(9). pii: E1161.
- ³³ 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.
- ³⁴ <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices>
- ³⁵ Skórka A, Pieścik-Lech M, Kołodziej M i wsp. Infant formulae supplemented with prebiotics: Are they better than unsupplemented formulae? An updated systematic review. *Br J Nutr* 2018;119:810-825.
- ³⁶ 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.
- ³⁷ *Słownik podstawowych pojęć używanych w opisie badań klinicznych*. Medycyna Praktyczna 2008;5:72-73.
- ³⁸ Guyatt G, Rennie D (red.). *Users' guides to the medical literature*. American Medical Association 2002.
- ³⁹ Higgins JPT, Green S (red.). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* 4.2.5 [updated May 2005]. W: The Cochrane Library, Issue 3, 2005. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- 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 Ahmadizar F, Vijverberg SJH, Arets HGM i wsp. Early-life antibiotic exposure increases the risk of developing allergic symptoms later in life: A meta-analysis. *Allergy* 2018;73:971-986.
- ⁴² Rasmussen SH, Shrestha S, Bjerregaard LG i wsp. Antibiotic exposure in early life and childhood overweight and obesity: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes Metab* 2018;20:1508-1514.
- ⁴³ 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.
- ⁴⁴ 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.
- ⁴⁵ Kajzer J, Oliver J, Marriage B. Gastrointestinal tolerance of formula supplemented with oligosaccharides. *FASEB J* 2016;30(Suppl. 1):671-674.
- ⁴⁶ Storm HM, Shepard J, Czerkies LM i wsp. 2'-Fucosyllactose Is Well Tolerated in a 100% Whey, Partially Hydrolyzed Infant Formula With *Bifidobacterium lactis*: A Randomized Controlled Trial. *Glob Pediatr Health* 2019;6:2333794X19833995.
- ⁴⁷ Nowak-Wegrzyn A, Czerkies L, Reyes K i wsp. Confirmed Hypoallergenicity of a Novel Whey-Based Extensively Hydrolyzed Infant Formula Containing Two Human Milk Oligosaccharides. *Nutrients* 2019;11(7).pii: E1447.