www.standardy.pl/pediatria

ISSN: 2080-5438

STANDARDY MEDYCZNE pediatria

pod patronatem

CENTRUM ZDROWIA DZIECKA

Reprint

Mieszanka dla niemowląt zawierająca pięć swoistych oligosacharydów mleka ludzkiego a mikrobiota jelitowa – badanie z randomizacją

Michał Pac

Komentarz do artykułu „Mieszanka dla niemowląt zawierająca pięć swoistych oligosacharydów mleka ludzkiego a mikrobiota jelitowa – badanie z randomizacją”

Hanna Szajewska

Komentarz do artykułu „Mieszanka dla niemowląt zawierająca pięć swoistych oligosacharydów mleka ludzkiego a mikrobiota jelitowa – badanie z randomizacją”

Aleksander Krasnow

media press
WYDAWNICTWO

Mieszanka dla niemowląt zawierająca pięć swoistych oligosacharydów mleka ludzkiego a mikrobiota jelitowa – badanie z randomizacją

Infant formula with a specific blend of five human milk oligosaccharides and gut microbiota – a randomized controlled trial

Michał Pac

Klinika Nefrologii, Transplantacji Nerek i Nadciśnienia Tętniczego, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka", Warszawa

Opracowanie na podstawie: Bosheva M, Tokodi I, Krasnow A i wsp.; 5 HMO Study Investigator Consortium. Infant Formula With a Specific Blend of Five Human Milk Oligosaccharides Drives the Gut Microbiota Development and Improves Gut Maturation Markers: A Randomized Controlled Trial. *Front Nutr* 2022;9:920362.

STRESZCZENIE

Artykuł jest opracowaniem badania z randomizacją, w którym oceniano wpływ mieszanki dla niemowląt zawierającej 5 oligosacharydów mleka ludzkiego na rozwój mikrobioty jelitowej.

Standardy Medyczne/Pediatria ■ 2023 ■ T. 20 ■ 639-643

SŁOWA KLUCZOWE: ■ MIESZANKI DLA NIEMOWLĄT ■ MIKROBIOTA ■ OLIGOSACHARYDY MLEKA LUDZKIEGO

ABSTRACT

This article summarizes a randomized controlled trial that investigated the effects of an infant formula containing five human milk oligosaccharides on gut maturation in infants.

Standardy Medyczne/Pediatria ■ 2023 ■ T. 20 ■ 639-643

KEY WORDS: ■ HUMAN MILK OLIGOSACCHARIDES ■ INFANT FORMULA ■ MICROBIOTA

Wstęp

W lipcu 2022 r. na łamach *Frontiers in Nutrition* ukazały się wyniki badania z randomizacją (ang. *randomized controlled trial*, RCT) dotyczącego wpływu mieszanki dla niemowląt zawierającej 5 swoistych oligosacharydów mleka ludzkiego (ang. *human milk oligosaccharides*, HMO) na rozwój mikrobioty jelitowej.

W skład mleka ludzkiego wchodzi ponad 160 HMO[1,2], spośród których można wydzielić 3 główne kategorie: oligosacharydy fukozylowane, niefukozylowane oraz sialylowane[3-6]. HMO odgrywają różnorodną i ważną rolę w rozwoju niemowląt. Pełnią funkcję prebiotyków, wspierając wytworzenie się i utrzymanie zbalansowanej mikrobioty jelitowej[2,3,7,8]. Sprzyjają rozwojowi *Bifidobacterium* u niemowląt karmionych piersią. Nie wszystkie *Bifidobacterium* potrafią metabolizować HMO. *Bifidobacterium longum infantis* jest szczególnym podgatunkiem potrafiącym rozmnażać się w obecności HMO[7]. Dodatkowa rola HMO polega na immunoprotekcji dzięki właściwościom przeciwadhezyjnym i przeciwbakteryjnym[8-10], regulującym odpowiedź komórek nabłonka jelitowego[3,7], a także modulującym odpowiedź immunologiczną poprzez bezpośrednie oddziaływanie na komórki odpornościowe oraz sekrecję cytokin[11-13]. Ponadto wykazano pozytywny wpływ HMO na rozwój mózgowia[14,15].

Postuluje się, że brak HMO u niemowląt karmionych mieszankami, w porównaniu z niemowlętami karmionymi piersią, jest jedną z przyczyn różnic w stanie zdrowia[16]. Obecnie dostępna jest technologia umożliwiająca syntezę HMO i ich dodanie do mieszanek dla niemowląt[7]. Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań klinicznych wskazują na dobry profil bezpieczeństwa i dobrą tolerancję

mieszanek z dodatkiem HMO. Te zawierające 2-fukozylolaktozę (2'FL)[17,18], 2'FL i lakto-N-neo-tetraozę (LNnT)[19,20] oraz wszystkie 5 HMO[21] [2'FL, 2'3-di-O--fukozylolaktozę (DFL), LNnT, 3'sialylolaktozę (3'SL) i 6'sialylolaktozę (6'SL)] sprzyjały rozwojowi mikrobiomu zbliżonego do występującego u niemowląt karmionych piersią. Również niemowlęta karmione mieszankami z 2'FL i galaktooligosacharydami miały profil cytokin w surowicy krwi zbliżony do niemowląt karmionych piersią.

Z powodu coraz większej dostępności HMO autorzy postanowili ocenić wpływ mieszanki zawierającej 5 swoistych HMO (2'FL, DFL, LNnT, 3'SL i 6'SL) na rozwój mikrobiomu jelitowego.

Metodologia

Opisywane podwójnie zaślepione badanie z randomizacją prowadzono między wrześniem 2018 r. a listopadem 2021 r. w 32 ośrodkach w Bułgarii, na Węgrzech i w Polsce. Wzięły w nim udział 3 randomizowane grupy karmione mieszankami dla niemowląt oraz 1 nierandomizowana grupa referencyjna karmiona mlekiem kobiecym. Uczestników obserwowano do 15. miesiąca życia. Niemowlęta z grup badawczych od czasu włączenia do badania do 6. m.ż. otrzymywały mieszankę początkową, następnie do 12. m.ż. – mieszankę następną, a od 12. do 15. m.ż. – mleko dla dzieci > 1. roku życia.

Do badania włączono zdrowe niemowlęta, urodzone o czasie, z urodzeniową masą ciała 2500-4500 g, w wieku między 7. a 21. dniem życia. Grupa kontrolna otrzymywała standardową mieszankę bez HMO, pierwsza grupa badawcza (GB1) – standardową mieszankę z dodatkiem 5 HMO o stężeniu 1,5 g/l, druga grupa badawcza (GB2) – mieszankę z dodatkiem 5 HMO o stężeniu 2,5 g/l. Stężenia poszczególnych oligosacharydów w mieszankach znajdowały się w przedziale wartości referencyjnych dla mleka ludzkiego[22-26].

Przeprowadzono analizę alfa- i beta-różnorodności mikrobiomu wyrażaną jako wskaźnik różnorodności Faitha[27] (WRF) oraz ważoną odległość UniFrac[28]. Dodatkowo analizowano wskaźnik Shannona dla metagenomu, genu oraz gatunku. Ponadto analizowanymi parametrami były: DNA mikrobiomu wyizolowane z kału, wydzielnicze IgA (ang. *secretory* IgA, sIgA) z kału oraz kalprotektyna i alfa-1-antytrypsyna (AAT) z kału.

Wyniki

Spośród 693 poddanych randomizacji niemowląt karmionych mieszankami dla niemowląt u 535 dokonano analizy stolca. W grupie kontrolnej znajdowało się 155 uczestników, w grupach badawczych 1 i 2 – odpowiednio: 158 i 153, natomiast w grupie karmionej mlekiem kobiecym – 69. Grupy nie różniły się pomiędzy sobą pod względem podstawowych parametrów, jedynie w przypadku grupy karmionej mlekiem kobiecym obserwowano wyższy poziom wykształcenia rodziców oraz dojrzalszy wiek urodzeniowy dzieci w porównaniu z niemowlętami karmionymi mieszankami.

Mikrobiom jelitowy

W momencie rozpoczęcia badania nie obserwowano różnic w przypadku różnorodności mikrobiomu pomiędzy niemowlętami karmionymi mieszankami. W wieku 3 miesięcy wskaźnik Shannona był niższy w GB1 niż w grupie kontrolnej. W wieku 6 miesięcy WRF oraz wszystkie wskaźniki Shannona były niższe w GB1 niż w grupie kontrolnej. W wieku 6 miesięcy w GB2 wskaźnik Shannona dla gatunku był niższy niż w grupie kontrolnej. Wszystkie parametry alfa-różnorodności w grupie karmionej mlekiem kobiecym były niższe niż w grupach karmionych mieszankami na każdym etapie badania.

Analiza odległości UniFrac ujawniła różnicę w składzie mikrobiomu jelitowego we wszystkich 4 grupach na każdym etapie badania. Obserwowano istotne różnice pomiędzy grupami karmionymi mieszankami w 3. oraz 6. m.ż. Grupy badawcze oraz grupa karmiona mlekiem kobiecym miały istotnie inny mikrobiom w porównaniu z grupą kontrolną w 3. oraz 6. m.ż. Każda z grup badawczych prezentowała istotne różnice w składzie mikrobiomu w porównaniu z grupą karmioną mlekiem kobiecym w momencie rozpoczęcia badania oraz w wieku 3 miesięcy, natomiast w przypadku GB2 – również w 6. m.ż. Wyniki te wskazują na zmiany w kierunku składu mikrobiomu typowego dla niemowląt karmionych mlekiem kobiecym.

W celu oceny podobieństw w składzie mikrobiomu pomiędzy niemowlętami karmionymi mieszankami a niemowlętami urodzonymi siłami natury i karmionymi mlekiem kobiecym obliczono dystans filogenetyczny pomiędzy każdą próbką a centroidem niemowląt urodzonych siłami natury w każdym z punktów czasowych badania. W 3. m.ż. zaobserwowano różnicę w opisanym parametrze. Wartości dla GB1 i GB2 były bardziej zbliżone do wartości dla niemowląt karmionych mlekiem kobiecym w porównaniu z grupą kontrolną. Różnica ta wzmocniła się w 6. m.ż., a mikrobiom w grupach GB1 i GB2 jeszcze bardziej upodobnił się do mikrobiomu niemowląt karmionych mlekiem kobiecym.

Następnie przeprowadzono analogiczną analizę, porównując niemowlęta urodzone przez cięcie cesarskie z niemowlętami urodzonymi siłami natury. W 3. m.ż. nie obserwowano różnic pomiędzy grupami badawczymi u niemowląt urodzonych siłami natury, natomiast odnotowano istotną różnicę u niemowląt urodzonych przez cięcie cesarskie pomiędzy

GB1 a grupą kontrolną. Po 6 miesiącach obserwowano istotną różnicę dla GB1 i GB2 w porównaniu z grupą kontrolną zarówno u niemowląt urodzonych przez cięcie cesarskie, jak i urodzonych siłami natury, a mikrobiom w grupach karmionych mieszankami z HMO ponownie upodobnił się do mikrobiomu niemowląt karmionych mlekiem kobiecym.

Następnie porównano liczebność mikrobiomu pod względem określonych grup bakterii. Stwierdzono, że względna ilość *Bifidobacterium* znacząco wzrosła w GB1 i GB2 przez 6 miesięcy badania, natomiast w grupie kontrolnej zmalała pomiędzy 3. a 6. miesiącem. Ilość *Bifidobacterium* w grupach badawczych w 6. m.ż. była zbliżona do występującej u niemowląt karmionych mlekiem kobiecym. Podobne zjawisko obserwowano po analizie grup z podziałem według drogi porodu. Dodatkowo podgatunek *B. infantis* był liczniejszy w GB1 i GB2 niż w grupie kontrolnej w 3. i 6. m.ż. oraz zbliżony do grupy niemowląt karmionych mlekiem kobiecym. Względna liczebność *B. infantis* była wyższa w GB1 niż w grupie kontrolnej również w momencie rozpoczęcia badania. Względna liczebność *Bifidobacterium* typowych dla niemowląt była wyższa w grupie karmionej mlekiem kobiecym niż w grupie kontrolnej przez cały czas trwania badania. W 3. m.ż. ten sam parametr w GB1 był wyższy niż w grupie kontrolnej, w 6. m.ż. zarówno w GB1, jak i GB2 był wyższy niż w grupie kontrolnej, a w GB1 nie różnił się od grupy karmionej mlekiem kobiecym. W przypadku pozostałych bakterii (*Clostridia*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcaceae* i *Streptococcus*) nie obserwowano wyjściowo różnic w liczebnościach, natomiast po 3 i 6 miesiącach w GB1 i GB2 były one istotnie różne od grupy kontrolnej, zbliżone do grupy karmionej mlekiem kobiecym. W przypadku *Clostridioides difficile* w 3. i 6. m.ż. względna liczebność w grupach GB1 i GB2 była niższa niż w grupie kontrolnej o 75--85% oraz porównywalna z niemowlętami karmionymi mlekiem kobiecym.

Biomarkery kałowe

Stężenia sIgA w wieku 3 miesięcy w grupach GB1 i GB2 były istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej, a różnica ta w grupie GB2 utrzymywała się w wieku 6 miesięcy. Grupa niemowląt karmionych mlekiem kobiecym miała wyższe stężenie sIgA niż grupy karmione mieszankami. Stężenie AAT było niższe w grupach badawczych w wieku 3 miesięcy niż w grupie kontrolnej, nie zaobserwowano natomiast różnic w wieku 6 miesięcy. Stężenie AAT w grupie niemowląt karmionych mlekiem kobiecym nie różniło się od wartości w grupach karmionych mieszankami. Stężenia kalprotektyny były niższe w GB1 niż w grupie kontrolnej w wieku 3 miesięcy. W wieku 6 miesięcy stężenie kalprotektyny było niższe w GB1 i grupie karmionej mlekiem kobiecym niż w grupie kontrolnej.

pH kału oraz kwasy organiczne

pH kału w grupach badawczych było istotnie niższe. We wszystkich punktach czasowych stężenie laktatów w grupie kontrolnej było niższe niż w pozostałych grupach. W wieku 6 miesięcy najwyższe stężenie laktatów obserwowano w grupie niemowląt karmionych mlekiem kobiecym. Względny stosunek octanów do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w wieku 3 i 6 miesięcy był niższy w grupie kontrolnej niż w grupach badawczych oraz najwyższy w grupie niemowląt karmionych mlekiem kobiecym. W wieku 3 miesięcy względne stężenia maślanów i izomaślanów były niższe w GB1 i GB2 niż w grupie kontrolnej oraz podobne do stężeń w grupie niemowląt karmionych mlekiem kobiecym. W wieku 6 miesięcy stężenie maślanów w GB1 nie różniło się od grupy kontrolnej, a w przypadku izomaślanów obserwowano jedynie trend, w którym ich stężenie było niższe w GB1 niż w grupie kontrolnej. W 3. i 6. m.ż. względne stężenie propionianów nie różniło się w grupach karmionych mieszankami, natomiast było istotnie niższe w grupie karmionej mlekiem kobiecym. W wieku 3 miesięcy względne stężenie izowalerianianów było istotnie wyższe w grupie kontrolnej niż w GB1, GB2 oraz grupie karmionej mlekiem kobiecym. W wieku 6 miesięcy stężenie izowalerianianów było istotnie wyższe w grupie kontrolnej niż w GB1 i w grupie karmionej mlekiem kobiecym oraz istotnie wyższe w GB2 niż w grupie karmionej mlekiem kobiecym.

Dyskusja

To pierwsze dotychczas opublikowane badanie, w którym oceniano wpływ podaży mieszanki dla niemowląt zawierającej 5 swoistych HMO na rozwój mikrobiomu jelitowego. Głównym wnioskiem z przedstawionego badania jest zdolność HMO do stymulowania rozwoju mikrobiomu jelitowego u niemowląt karmionych mieszankami w kierunku mikrobiomu typowego dla niemowląt karmionych mlekiem kobiecym, w tym większej liczebności bifidobakterii i niższej liczebności toksynogennej *C. difficile* oraz poprawy wczesnej jelitowej odpowiedzi immunologicznej poprzez zwiększenie stężenia sIgA.

Wpływ HMO jest widoczny już w wieku 3 miesięcy, na co wskazuje analiza beta-różnorodności. W wieku 6 miesięcy efekt ten jest jeszcze bardziej zaznaczony, również w parametrach oceniających alfa--różnorodność, które istotnie różniły się pomiędzy grupami badawczymi a grupą kontrolną. W grupach badawczych zaobserwowano także zmianę mikrobiomu w kierunku składu typowego dla nie-

mowląt karmionych mlekiem kobiecym i urodzonych siłami natury, niezależnie od drogi porodu.
Wyniki opisywanego badania sugerują, że HMO odgrywa istotną rolę w rozwoju mikrobiomu jelitowego, również po wprowadzeniu pokarmu komplementarnego, oraz że 5 specyficznych HMO promuje rozwój bifidobakterii typowych dla niemowląt karmionych mlekiem kobiecym. *Bifidobacterium* obecne w przewodzie pokarmowym niemowląt mają zdolność metabolizowania HMO[29]. Kolejną różnicą zaobserwowaną w opisywanym badaniu była większa liczebność *B. infantis* w grupach badawczych niż w grupie kontrolnej. Wyniki badania wskazują, że *B. infantis* zyskuje przewagę środowiskową w obecności 5 HMO. Wpływ 5 HMO na *Bifidobacterium* jest taki sam, niezależnie od drogi porodu, co sugeruje, że HMO mogą korygować dysbiozę u dzieci urodzonych przez cięcie cesarskie[30]. Podobne zjawisko korygowania dysbiozy było opisywane dla karmienia piersią[30,31]. Również wyniki poprzednio opublikowanego badania oceniającego 2 HMO (2'F i LNnT) wskazują na ich pozytywny wpływ na rozwój *B. infantis*, szczególnie u dzieci urodzonych przez cięcie cesarskie[32].
Stężenia octanów oraz laktatów były wyższe u niemowląt otrzymujących mieszanki zawierające HMO niż w grupie kontrolnej. Obydwa kwasy są końcowymi produktami katabolizmu bifidobakterii[33], co pośrednio może wskazywać na wzmożony rozwój tej grupy bakterii w grupach badawczych oraz zwiększenie aktywności enzymów bifidobakterii[34]. Z drugiej strony, obserwowano również zmniejszone stężenia maślanów, izomaślanów oraz izowalerianianów w grupach badawczych i w grupie karmionej mlekiem kobiecym w porównaniu z grupą kontrolną, co wskazuje na większą różnorodność mikrobiomu w grupie kontrolnej. Maślany są produkowane przez *Bacteroides* i *Firmicutes*, ale nie przez *Bifidobacterium*[35]. Laktaty i octany odgrywają kluczową rolę w regulowaniu pH jelita grubego[36], a obniżone pH w opisywanym badaniu przyczyniło się do zmniejszenia liczebności *C. difficile* w grupach badawczych. Ponadto opublikowane dotychczas badania sugerują, że octany mogą promować odpowiedź neutrofilów oraz wrodzonych komórek limfoidalnych typu 3 przeciwko *C. difficile*[37]. Istnieją również przesłanki mówiące, że HMO poprzez modulację mikrobiomu może hamować adhezję *C. difficile* do nabłonka jelitowego[38].
Bariera immunologiczna w jelicie dojrzewa wraz z rozwojem układu pokarmowego. Stężenie sIgA w kale – markera jelitowego odpowiedzi immunologicznej[39] – było wyższe w grupach badawczych niż w grupie kontrolnej w wieku 3 miesięcy, a różnica ta utrzymywała się w przypadku GB2 do wieku 6 miesięcy. Mogło być to spowodowane przez wzrost liczebności *Bifidobacterium*, które stymulują komórki układu odpornościowego[40-42].
Większa liczebność *Bifidobacterium* typowych dla niemowląt karmionych mlekiem kobiecym w grupach badawczych sugeruje również, że 5 specyficznych HMO zwiększa produkcję niektórych immunomodulujących metabolitów, takich jak octany. Ich rola polega prawdopodobnie na stymulacji niezależnej od limfocytów T produkcji jelitowych IgA[43].
W grupach badawczych w wieku 3 miesięcy obserwowano również zmniejszone stężenie AAT w porównaniu z grupą kontrolną. AAT to marker przepuszczalności bariery jelitowej.
Zaletami opisywanego badania są duża liczebność uwzględnionej w nim populacji (> 100 niemowląt w grupach karmionych mieszankami i > 50 niemowląt w grupie karmionej mlekiem kobiecym) oraz zaawansowane metody badawcze opisujące metagenomikę. Ograniczeniem jest brak danych dotyczących żywienia komplementarnego po 4. m.ż., które może w istotny sposób wpływać na rozwój mikrobiomu jelitowego.

Wnioski

Wyniki opisywanego badania sugerują, że mieszanki dla niemowląt zawierające 5 specyficznych HMO mogą w istotny sposób modulować rozwój przewodu pokarmowego niemowląt. Podawanie mieszanki zawierającej HMO może sprzyjać rozwojowi mikrobiomu jelitowego zbliżonego do występującego u dzieci karmionych mlekiem kobiecym.

lek. Michał Pac

Klinika Nefrologii, Transplantacji Nerek i Nadciśnienia Tętniczego
Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka"
04-730 Warszawa, al. Dzieci Polskich 20

michal.pac@standardy.pl

PIŚMIENNICTWO

1. Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012;22:1147-1162
2. Sánchez C, Fente C, Regal P i wsp. Human Milk Oligosaccharides (HMOs) and Infant Microbiota: A Scoping Review. *Foods* 2021;10:1429.
3. Bao Y, Chen C, Newburg DS. Quantification of neutral human milk oligosaccharides by graphitic carbon high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Anal Biochem* 2013;433:28-35.
4. Coppa GV, Pierani P, Zampini L i wsp. Oligosaccharides in human milk during different phases of lactation. *Acta Paediatr Suppl* 1999;88:89-94.
5. Hamosh M. Bioactive factors in human milk. *Pediatr Clin North Am* 2001;48:69-86.
6. Zhang S, Li T, Xie J i wsp. Gold standard for nutrition: a review of human milk oligosaccharide and its effects on infant gut microbiota. *Microb Cell Fact* 2021;20:108.
7. Walsh C, Lane JA, van Sinderen D i wsp. Human milk oligosaccharides: Shaping the infant gut microbiota and supporting health. *J Funct Foods* 2020;72:104074.

8 Bode L. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Hum Dev* 2015;91:619-622.

9 Lin AE, Autran CA, Szyszka A i wsp. Human milk oligosaccharides inhibit growth of group B *Streptococcus*. *J Biol Chem* 2017;292:11243-11249.

10 Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, Morrow AL. Human milk glycans protect infants against enteric pathogens. *Annu Rev Nutr* 2005;25:37-58.

11 Donovan SM, Comstock SS. Human Milk Oligosaccharides Influence Neonatal Mucosal and Systemic Immunity. *Ann Nutr Metab* 2016;69(Suppl. 2):42-51.

12 Kuntz S, Rudloff S, Kunz C. Oligosaccharides from human milk influence growth-related characteristics of intestinally transformed and non-transformed intestinal cells. *Br J Nutr* 2008;99:462-471.

13 Sodhi CP, Wipf P, Yamaguchi Y i wsp. The human milk oligosaccharides 2′-fucosyllactose and 6′-sialyllactose protect against the development of necrotizing enterocolitis by inhibiting toll-like receptor 4 signaling. *Pediatr Res* 2021;89:91-101.

14 Cho S, Zhu Z, Li T i wsp. Human milk 3′-Sialyllactose is positively associated with language development during infancy. *Am J Clin Nutr* 2021;114:588-597.

15 Hauser J, Pisa E, Arias Vásquez A i wsp. Sialylated human milk oligosaccharides program cognitive development through a non-genomic transmission mode. *Mol Psychiatry* 2021;26:2854-2871.

16 Victora 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.

17 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.

18 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* 201915;6:2333794X19833995.

19 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.

20 Román E, Moreno Villares JM, Domínguez Ortega F i wsp. Real-world study in infants fed with an infant formula with two human milk oligosaccharides. *Nutr Hosp* 2020;37:698-706.

21 Parschat K, Melsaether C, Jäpelt KR i wsp. Clinical Evaluation of 16-Week Supplementation with 5HMO-Mix in Healthy-Term Human Infants to Determine Tolerability, Safety, and Effect on Growth. *Nutrients* 2021;13:2871.

22 Austin S, De Castro CA, Bénet T i wsp. Temporal Change of the Content of 10 Oligosaccharides in the Milk of Chinese Urban Mothers. *Nutrients* 2016;8:346.

23 Austin S, De Castro CA, Sprenger N i wsp. Human Milk Oligosaccharides in the Milk of Mothers Delivering Term versus Preterm Infants. *Nutrients* 2019;11:1282.

24 Lefebvre G, Shevlyakova M, Charpagne A i wsp. Time of Lactation and Maternal Fucosyltransferase Genetic Polymorphisms Determine the Variability in Human Milk Oligosaccharides. *Front Nutr* 2020;7:574459.

25 Samuel TM, Binia A, de Castro CA i wsp. Impact of maternal characteristics on human milk oligosaccharide composition over the first 4 months of lactation in a cohort of healthy European mothers. *Sci Rep* 2019;9:11767.

26 Sprenger N, Lee LY, De Castro CA i wsp. Longitudinal change of selected human milk oligosaccharides and association to infants' growth, an observatory, single center, longitudinal cohort study. *PLoS One* 2017;12:$e_0$171814.

27 Faith DP, Baker AM. Phylogenetic diversity (PD) and biodiversity conservation: some bioinformatics challenges. *Evol Bioinform Online* 2007;2:121-128.

28 Hamady M, Lozupone C, Knight R. Fast UniFrac: facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data. *ISME J* 2010;4:17-27.

29 Turroni F, Milani C, Duranti S i wsp. Glycan Utilization and Cross-Feeding Activities by Bifidobacteria. *Trends Microbiol* 2018;26:339-350.

30 Salas Garcia MC, Yee AL, Gilbert JA i wsp. Dysbiosis in Children Born by Caesarean Section. *Ann Nutr Metab* 2018;73(Suppl. 3):24-32.

31 Bokulich NA, Chung J, Battaglia T i wsp. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Sci Transl Med* 2016;8:343ra82.

32 Berger B, Porta N, Foata F i wsp. Linking Human Milk Oligosaccharides, Infant Fecal Community Types, and Later Risk To Require Antibiotics. *mBio* 2020;11:$e_0$3196-19.

33 O'Callaghan A, van Sinderen D. Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota. *Front Microbiol* 2016;7:925.

34 Kim JH, An HJ, Garrido D i wsp. Proteomic analysis of Bifidobacterium longum subsp. infantis reveals the metabolic insight on consumption of prebiotics and host glycans. *PLoS One* ;8:$e_5$7535.

35 Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol* 2017;19:29-41.

36 Duar RM, Kyle D, Casaburi G. Colonization Resistance in the Infant Gut: The Role of *B. infantis* in Reducing pH and Preventing Pathogen Growth. *High Throughput* 2020;9:7.

37 Fachi JL, Sécca C, Rodrigues PB i wsp. Acetate coordinates neutrophil and ILC_3 responses against C. difficile through FFAR2. *J Exp Med* 2020;217:jem.20190489.

38 Vigsnaes LK, Ghyselinck J, Van den Abbeele P i wsp. 2′FL and LNnT Exert Antipathogenic Effects against *C. difficile* ATCC 9689 In Vitro, Coinciding with Increased Levels of *Bifidobacteriaceae* and/or Secondary Bile Acids. *Pathogens* 2021;10:927.

39 Forchielli ML, Walker WA. The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence. *Br J Nutr* 2005;93(Suppl. 1):41-48.

40 Ruiz L, Delgado S, Ruas-Madiedo P i wsp. Bifidobacteria and Their Molecular Communication with the Immune System. *Front Microbiol* 2017;8:2345.

41 Hoarau C, Lagaraine C, Martin L i wsp. Supernatant of Bifidobacterium breve induces dendritic cell maturation, activation, and survival through a Toll-like receptor 2 pathway. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:696-702.

42 Ewaschuk JB, Diaz H, Meddings L i wsp. Secreted bioactive factors from Bifidobacterium infantis enhance epithelial cell barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295:G1025-34.

43 Takeuchi T, Miyauchi E, Kanaya T i wsp. Acetate differentially regulates IgA reactivity to commensal bacteria. *Nature* 2021;595:560-564.

Komentarz do artykułu „Mieszanka dla niemowląt zawierająca pięć swoistych oligosacharydów mleka ludzkiego a mikrobiota jelitowa – badanie z randomizacją”

Comment on the article „Infant formula with a specific blend of five human milk oligosaccharides and gut microbiota – a randomized controlled trial”

Hanna Szajewska

Klinika Pediatrii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Co już wiadomo?

Szacuje się, że w mleku matki znajduje się ok. 150--200 (dokładna liczba nie jest znana) strukturalnie i funkcjonalnie różnych oligosacharydów mleka ludzkiego (ang. *human milk oligosaccharides*, HMO)[1]. Choć nie mają one wartości odżywczej dla niemowlęcia, wykazują szereg korzystnych działań, w tym właściwości prebiotyczne. W przewodzie pokarmowym HMO stymulują rozwój wybranych bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, w szczególności *B. longum* subs. *infantis (B. infantis), B. breve* i *B. bifidum.* Ponadto posiadają właściwości antyadhezyjne, działają przeciwdrobnoustrojowo i immunomodulacyjnie[2]. Współczesne metody biotechnologiczne, w tym inżynieria metaboliczna drobnoustrojów, takich jak *Escherichia coli*[3,4], umożliwia wytwarzanie przynajmniej niektórych HMO, które można następnie stosować m.in. w mieszankach mlecznych.

Czy HMO obecne w pokarmie matki i dodawane do mieszanek są identyczne?

Tak, pod względem strukturalnym są identyczne, ale różnią się sposobem pozyskiwania. Trwają dyskusje dotyczące nazwania ich w sposób umożliwiający odróżnienie. Najpopularniejsze propozycje to: identyczne jak oligosacharydy pokarmu kobiecego (ang. *human-identical milk oligosaccharide*, HiMO), analogi HMO (ang. HMO-*analogues*) lub syntetyczne oligosacharydy (ang. *synthetic oligosaccharides*)[5-7]. Na razie żadna z tych nazw nie została powszechnie zaakceptowana. Najczęściej wszystkie HMO, niezależnie od źródła pochodzenia, są po prostu nazywane HMO, ale zawsze warto wiedzieć, o których mowa.

Czego nie wiadomo?

Nadal jest więcej pytań niż odpowiedzi, stąd konieczne są dalsze badania. Czy wszystkie HMO w pokarmie kobiecym są równie ważne? Jeśli nie, które z nich są najważniejsze i powinny być dodawane do mieszanek dla niemowląt? Jakie korzyści niesie za sobą stosowanie mieszanki wzbogacanej w większą liczbę aktualnie dostępnych HMO?

Co nowego wnosi badanie?

Przedstawione w artykule badanie dostarcza nowych danych na temat wpływu 5 określonych HMO dodanych do mleka modyfikowanego dla niemowląt na mikrobiotę jelitową. Szczególnie ważne jest wykazanie: 1. korzystnego wpływu na mikrobiotę bakteryjną (rozwój korzystnych bakterii, zwłaszcza *B. infantis*, oraz zmniejszenie obecności szkodliwych bakterii, takich jak *Clostridioides difficile*); 2. poprawy funkcji odpornościowej jelit; 3. redukcji wskaźników stanu zapalnego.

Znaczenie badania dla praktyki klinicznej

Wpływ na mikrobiotę jelitową, przybliżenie jej do mikrobioty niemowląt karmionych wyłącznie mlekiem matki, stanowi pożądany efekt. Pytanie, czy przekłada się to na efekty kliniczne. Nie dysponując jeszcze wynikami takich badań, tylko pośrednio można wnioskować, że są one możliwe. Od kil-

ku lat w wielu krajach, także w Polsce, dostępne są preparaty zastępujące pokarm matki zawierające 2'-FL i LNnT. Wykazano, że taka kombinacja zapewnia niemowlętom prawidłowy rozwój fizyczny, jest dobrze tolerowana oraz może wpływać na zmniejszenie ryzyka zapalenia oskrzeli oraz zakażeń dolnych dróg oddechowych, stosowania antybiotyków oraz leków przeciwgorączkowych[8]. Podobnie jak karmienie piersią, nie gwarantuje, że wszystkie dzieci będą zdrowe, mądre i szczęśliwe, nie można oczekiwać, że jakiekolwiek dodatki stosowane w mieszankach dla niemowląt zapewnią idealne rezultaty. Podejmując decyzję o wyborze mieszanki dla niemowląt, należy zatem mieć realne oczekiwania. Niemniej każde przybliżenie mieszanki do składu mleka matki jest warte uwagi i badań, ponieważ może przynosić korzyści zdrowotne.

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

1. Triantis V, Bode L, van Neerven RJJ. Immunological Effects of Human Milk Oligosaccharides. *Front Pediatr* 2018;6:190.
2. Bode L. Human Milk Oligosaccharides: Structure and Functions. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 2020;94:115-123.
3. EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck D, Castenmiller J, De Henauw S i wsp. Safety of lacto-N-neotetraose (LNnT) produced by derivative strains of E. coli BL21 as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA J* 2020;18:$e_0$6305.
4. EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck D, Castenmiller J, De Henauw S i wsp. Safety of 2'-fucosyllactose/difucosyllactose mixture as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA J* 2019;17:$e_0$5717.
5. Szajewska H. Selected Human Milk Oligosaccharides Added to Infant Formulas for Term Infants. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 2021;96:149-159.
6. EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck D, Castenmiller J, De Henauw S i wsp. Safety of lacto-N-neotetraose (LNnT) produced by derivative strains of E. coli BL21 as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA J* 2020;18:$e_0$6305.
7. Bührer C, Ensenauer R, Jochum F i wsp. Infant formulas with synthetic oligosaccharides and respective marketing practices. *Mol Cell Pediatr* 2022;9:14. Erratum in: *Mol Cell Pediatr* 2022;9:15.
8. 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.

Komentarz do artykułu „Mieszanka dla niemowląt zawierająca pięć swoistych oligosacharydów mleka ludzkiego a mikrobiota jelitowa – badanie z randomizacją”

Comment on the article „Infant formula with a specific blend of five human milk oligosaccharides and gut microbiota – a randomized controlled trial”

Aleksander Krasnow

Gdańskie Centrum Zdrowia Sp. z o.o.

Celem międzynarodowego wieloośrodkowego badania klinicznego z randomizacją była ocena wpływu preparatu mleka modyfikowanego dla niemowląt, uzupełnionego pięcioma oligosacharydami mleka ludzkiego (ang. *human milk oligosaccharides*, HMO), na dojrzewanie jelit niemowląt karmionych standardową mieszanką na bazie mleka krowiego i karmionych piersią. Badania skupiały się na kilku aspektach, w tym składzie mikrobiomu, metabolizmie i biomarkerach w próbkach kału pobranych od niemowląt w różnych punktach czasowych (punkt wyjściowy, 3 miesiące i 6 miesięcy).

Kluczowe wnioski z badania

Skład mikrobiomu: U niemowląt karmionych mieszankami zawierającymi HMO (grupy badawcze, GB1 i GB2) skład mikroflory był bliższy składowi mikroflory niemowląt karmionych piersią w porównaniu z grupą kontrolną w wieku 3 i 6 miesięcy.

Obfitość *Bifidobacterium*: Stosowanie preparatu mleka modyfikowanego uzupełnionego HMO skutkowało wyższym poziomem *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* (*B. infantis*) w grupach testowych w porównaniu z grupą kontrolną. Wzrost ten był zbliżony do poziomu obserwowanego u niemowląt karmionych piersią.

Obfitość *Clostridioides difficile*: Ilość toksycznych *C. difficile* była znacznie niższa u niemowląt karmionych mieszanką z dodatkiem HMO w porównaniu z grupą kontrolną, co bardziej odpowiadało poziomom obserwowanym u niemowląt karmionych piersią.

pH kału i profil kwasów organicznych: pH kału było niższe u niemowląt karmionych mieszanką z dodatkiem HMO, a ogólny profil kwasów organicznych był inny w porównaniu z grupą kontrolną i przypominał skład profilu niemowląt karmionych piersią.

Markery immunologiczne: W wieku 3 i 6 miesięcy niemowlęta w grupach testowych wykazywały wyższe stężenie wydzielniczej immunoglobuliny A (sIgA) i niższe alfa-1-antytrypsyny, co wskazuje na pozytywny wpływ na rozwój jelitowego układu odpornościowego i funkcjonowanie bariery jelitowej.

Stężenia kalprotektyny: Po 6 miesiącach zaobserwowano niższe stężenie kalprotektyny w jednej z grup otrzymujących suplement HMO (GB1) w porównaniu z grupą kontrolną, co sugeruje potencjalne korzyści dla zdrowia jelit i zmniejszenie stanu zapalnego.

Podsumowując, z badania wynika, że preparat dla niemowląt uzupełniony specyficzną mieszanką pięciu HMO wspiera rozwój jelitowego układu odpornościowego, wzmacnia funkcję bariery jelitowej i kształtuje skład mikrobiomu jelitowego bardziej zbliżony do składu mikrobiomu jelitowego niemowląt karmionych piersią. Warto zauważyć, że suplementacja ta doprowadziła do powstania wyższego poziomu pożytecznych bakterii, takich jak *B. infantis*, i niższego poziomu szkodliwych bakterii, takich jak toksyczne *C. difficile*. Efekty te dowodzą potencjalnych korzyści dla zdrowia i rozwoju jelit niemowląt we wczesnym okresie rozwojowym.

lek. Aleksander Krasnow

Gdańskie Centrum Zdrowia Sp. z o.o.
80-542 Gdańsk, ul. Oliwska 62

olek_k@hotmail.com

Nestlé NAN 2

Wybór, który ma znaczenie

Klinicznie potwierdzono, że NAN® OPTIPRO® PLUS z kompleksem – 5 HMO[1,2,3]

- wspiera prawidłowy wzrost
- przesuwa mikrobiom w kierunku tego, który występuje u dzieci karmionych piersią
- wspiera rozwój układu immunologicznego jelita

NOWA RECEPTURA

Wkrótce w sprzedaży

KARMIENIE PIERSIĄ JEST NAJLEPSZYM SPOSOBEM ŻYWIENIA NIEMOWLĄT

WYŁĄCZNIE DLA PRACOWNIKÓW OCHRONY ZDROWIA

1. Bauer V. et al. Abstract at ISPPP Congress 2021. 2. Dogra S.K. et al. Abstract presented at Nutrition & Growth 2023. 3. Bauer V, et al. Abstract at Nutrition & Growth 2023.