

WYBRANE SKŁADNIKI MLEKA W PROFILAKTYCE SCHORZEŃ JELITOWYCH I WZMACNIANIU ODPORNOŚCI NOWORODKÓW I NIEMOWLĄT

SELECTED COMPONENTS OF MILK IN THE PREVENTION OF INTESTINAL DISEASES AND STRENGTHENING THE IMMUNITY OF NEWBORNS AND INFANTS

Maria Wilińska¹

STRESZCZENIE

Mleko matki jest doskonałym pożywieniem dla noworodków i niemowląt, precyzyjnie dostosowanym przez ewolucję do wymagań dziecka. Zawiera wiele złożonych białek, lipidów i węglowodanów, których stężenia dynamicznie zmieniają się podczas laktacji, aby dostosować się do bieżących potrzeb dziecka karmionego piersią. Mleko matki nie tylko jest źródłem pożywienia, zawiera również niezliczone ilości biologicznie aktywnych składników. Częsteczki te pełnią różnorodne role, kierują zarówno rozwojem układu odpornościowego niemowląt, jak i mikrobioty jelitowej. Rozwój mikrobioty koordynują oligosacharydy mleka ludzkiego, a ich syntezę determinuje genotyp matki. Niektóre składniki mleka kobiecego zostały zsyntetyzowane z wykorzystaniem metod biotechnologicznych lub uzyskano analogiczne preparaty odzwierzęce. Są one dodawane do mieszanek przeznaczonych do sztucznego żywienia niemowląt. W artykule analizujemy istniejące piśmiennictwo oceniające ich bezpieczeństwo i skuteczność. Poznanie roli składników mleka matki i ich funkcji ułatwi zrozumienie odpowiedzi immunologicznej na infekcje u niemowląt oraz umożliwi poprawę praktyk klinicznych w zakresie karmienia niemowląt.

SŁOWA KLUCZOWE: noworodek, mleko ludzkie, mieszanka sztuczna, składniki bioaktywne

ABSTRACT

Breast milk is the perfect nutrition for infants, a result of millions of years of evolution, finely attuning it to the requirements of the infant. Breast milk contains many complex proteins, lipids and carbohydrates, the concentrations of which alter dramatically over a lactation, to reflect the infant's needs. In addition to providing a source of nutrition for infants, breast milk contains a myriad of biologically active components. These molecules possess diverse roles, both guiding the development of the infants immune system and intestinal microbiota. Orchestrating the development of the microbiota are the human milk oligosaccharides, the synthesis of which are determined by the maternal genotype. Many of the valuable ingredients in human milk are either biotechnologically sourced or animal derived and added to infant's formulas. The article assesses their safety and effectiveness. Understanding the components of breast milk and their functions will allow for the improvement of clinical practices, infant feeding and our understanding of immune responses to infection in infants.

KEY WORDS: newborn, human milk, infant formula, bioactive ingredients

WSTĘP

Odżywianie noworodka i niemowlęcia powinno zapewniać optymalną ilość i skład poszczególnych substancji pokarmowych, jak również dostarczać koniecznych składników bioaktywnych, aby chronić dzieci przed chorobami podczas intensywnego dojrzewania ich własnego układu odpornościowego.

Mleko matki jest złożonym i zmiennym płynem biologicznym, którego skład ewoluował przez tysiąclecia, tak aby dostosować się do potrzeb żywieniowych dziecka.

Przemysł produkujący mieszanki sztuczne stara się uwzględnić postęp wiedzy w odkrywaniu

składników pokarmu kobiecego. Dzięki rozwojowi biotechnologii mieszanki sztuczne ciągle zmieniają skład, aby zbliżyć się do wzorca, jakim jest mleko kobiece.

OLIGOSACHARYDY MLEKA KOBIECEGO

Oligosacharydy pokarmu kobiecego (ang. human milk oligosaccharides – HMO) to złożone węglowodany, zbudowane z pięciu monocukrów: glukozy, galaktozy, N-acetyloglukozaminy, kwasu sialowego i fukozy. Są wytwarzane wyłącznie w gruczole piersiowym matki. Po laktozie i tłuszczach to trzeci pod względem ilości składnik mleka kobiecego [1].

¹ Klinika Neonatologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Adres do korespondencji: Maria Wilińska, Klinika Neonatologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, ul. Czerniakowska 231, 00-416 Warszawa, e-mail: wilinska.maria@gmail.com, tel. 602 114 113

STRUKTURA HMO

Podstawowe monocukry, czyli glukoza i galaktoza, są połączone wiązaniem 1,4 glikozydowym. Struktura ta może ulec wydłużeniu lub rozgałęzieniu. Wydłużenie odbywa się przez połączenia β 1,3 lub β 1,4. Rozgałęzienie HMO uzyskują przez połączenia β 1,6. Dołączenie fukozy w miejsca α 1,2, α 1,3 lub α 1,4 to fukozylacja. Przyłączenie kwasu sjałowego przez α 2,3, α 2,6 to sjałizacja. Wymienione zmiany struktury HMO pokazują, że struktura finalna może być różnorodna i ona decyduje o funkcji HMO.

Wyróżnia się HMO:

- neutralne
 - fukozylowane (2'fukozylolaktoza, 2'FL i 3'fukozylolaktoza, 3'FL),
 - niefukozylowane;
- kwaśne, sjałylowe, np. 3'sjałylolaktoza (3'SL) i 6'sjałylolaktoza (6'SL).

W mleku kobiecym dotychczas zidentyfikowano ponad 200 HMO, a liczba ta ciągle wzrasta [2]. Skład HMO w mleku poszczególnych matek jest uwarunkowany genetycznie. Obecność genu FUT 2, kodującego α 1,2 fukozylotransferazę, decyduje o przynależności kobiety do grupy tzw. wydzielaczy (ang. secretor – Se+), natomiast nieobecność tego genu – do grupy niewydzielaczy (ang. non-secretor – Se-). Gen FUT 3, kodujący α 3,4 fukozylotransferazę, jest związany z grupą krwi Le (Lewis). Jego obecność kwalifikuje kobiety do grupy Le+, a nieobecność do grupy Le-. Większość kobiet (70%) odznacza się fenotypem Se+ L+ [3].

W mleku matek z grupy wydzielaczy stężenie HMO jest wyższe. Obecność fukozylowanych HMO (głównie 2'FL) wpływa hamująco na rozwój takich patogenów, jak *Campylobacter*, *Norovirus*, *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Helicobacter pylori* [4].

W siarze stężenie HMO jest najwyższe, osiąga 20–30 g/l, natomiast w mleku dojrzalym wynosi 5–15 g/l. Istnieją różnice populacyjne w składzie HMO w mleku kobiecym, głównie co do 2'FL [5].

Oligosacharydy nie poddają się działaniu kwasu solnego w żołądku ani enzymów soku jelitowego. W stanie nietkniętym osiągają jelito dziecka. Śladowa ich ilość (około 1%) wchłania się w jelicie cienkim do krążenia dziecka, pozostałe przemieszczają się do jelita grubego. To jest miejsce ich zasadniczego działania.

Główną rolą HMO jest odżywianie wybranych bakterii przewodu pokarmowego z rodzaju *Bifidobacterium*, szczególnie *Bifidobacterium longum*, *B. infantis*, *B. breve* i *B. bifidum*. Jest to

flora fizjologiczna jelit, modyfikująca mikrobiotę przewodu pokarmowego. Jej rolą jest hamowanie wzrostu patogenów przewodu pokarmowego. Działanie prebiotyczne HMO, czyli stymulujące rozwój bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, jest najważniejszym działaniem HFO. Bakterie te produkują tzw. postbiotyki, m.in. krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, korzystnie oddziałujące na mikrobiotę jelitową.

HMO działają antyadhezyjnie, stanowią bowiem „przynętę” dla patogenów jelitowych, przez co zapobiegają łączeniu się ich z receptorami komórek nabłonka jelitowego. Stanowią tzw. fałszywy receptor dla lektyn (glikanów) bakterii patogennych dzięki podobieństwu do receptorów enterocytów. Po połączeniu kompleks HMO–patogen jest wydalany ze stolcem [1, 2].

HMO są w stanie wpływać na układ immunologiczny. Odbywa się to na poziomie wewnątrzkomórkowym przez modyfikację wydzielania cytokin regulujących równowagę Th1/Th2, stymulację makrofagów oraz regulację (zarówno nasilania, jak i hamowania) translokacji leukocytów poza naczynia krwionośne [6, 7].

Badania obserwacyjne wykazują, że u niemowląt karmionych piersią rzadziej niż u karmionych sztucznie dochodzi do infekcji przewodu pokarmowego i dróg oddechowych. Stwierdzono, że u dzieci karmionych mlekiem kobiecym bogatym w HMO, zwłaszcza 2'FL, rzadziej występują biegunki infekcyjne oraz mniejsze jest ryzyko alergii niż u dzieci karmionych mlekiem o niskim stężeniu tej frakcji. Z niskim stężeniem DSLNT (disialylo-lakto-N-tetraozy) w mleku matki wiąże się występowanie martwiczego zapalenia jelit u wcześniaków, a nadwaga i otyłość – z wysokim stężeniem 2'FT i niskim LNT. Udokumentowano, że wysokie stężenie fukozylo-disialylo-lakto-N-hexaozy (FDSLNH) w mleku matki zmniejsza ryzyko zgonu noworodków w przebiegu zakażeń późnych. Z wysokim stężeniem 2'FL wiążą się także lepsze wyniki rozwoju funkcji poznawczych, ocenianych w skali Bayleya III [8, 9, 10].

PRZECIWWIRUSOWE DZIAŁANIE HMO

Wykazano zdolność HMO do hamowania wnikania wirusów (rotawirusów, norowirusów, wirusów grypy oraz HIV) do komórek organizmu. Hamowanie to jest wynikiem wiązania się HMO z receptorami lektynowymi wirusów. Takie działanie uniemożliwia adhezję patogenów do światła jelita, a powstały kompleks wirus–HMO pozostaje w świetle przewodu pokarmowego i w ten sposób rozwój zakażenia zo-

staje zahamowany [11]. To ważne spostrzeżenie nabiera szczególnej wagi w czasie pandemii COVID, zwłaszcza uzasadnia wycofanie się z zalecenia o wstrzymaniu karmienia piersią przez kobiety SARS CoV-2 dodatnie. Nie ma przeciwwskazań co do karmienia piersią przez kobiety SARS CoV-2 dodatnie. W mleku kobiet rodzących chorych na COVID nie stwierdzono obecności wirusa SARS COV-2. Co więcej, badania potwierdzają, że mleko matki chroni przed zakażeniem. Badania dotyczące bezpieczeństwa karmienia w kontekście SARS CoV-2 są kontynuowane [12].

Oligosacharydy dodawane jako prebiotyki do mieszanek sztucznych są dobrze tolerowane. Komitet ds. Żywienia ESPGHAN (2011 r.) potwierdza, że podawanie mleka modyfikowanego zawierającego prebiotyki nie jest związane z niekorzystnym wpływem na rozwój fizyczny i występowanie działań niepożądanych. Mleko modyfikowane zawierające niektóre prebiotyki ma pewne korzystne działania kliniczne, na przykład wpływa na zwiększenie częstotliwości oddawania stolca i jego bardziej miękką konsystencję. Podawanie hydrolizatu o znacznym stopniu hydrolizy białka zawierającego GOS/FOS zmniejsza ryzyko wystąpienia niektórych reakcji alergicznych i chorób infekcyjnych. Brakuje jednak danych naukowych dotyczących odległych skutków wzbogacania mleka modyfikowanego prebiotykami. Uwzględniając powyższe dane, Komitet ds. Żywienia nie rekomenduje prebiotyków do rutynowego wzbogacania mleka modyfikowanego dla niemowląt [13].

LAKTOFERYNA

Jest to glikoproteina o działaniu przeciwwirusowym, przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybiczym. Mechanizm działania obejmuje odwracalne chelatowanie jonów Fe. Żelazo jest niezbędne do namnażania się drobnoustrojów, a sekwestracja żelaza znacznie ogranicza ich potencjał chorobotwórczy. Ponadto stwierdzono, że laktoferyna hamuje tworzenie się bakteryjnego biofilmu. Kolejnym mechanizmem jest blokowanie adhezji patogenów do komórek nabłonkowych jelita. Laktoferyna blokuje także jelitowe receptory dla patogenów. Działa bifidogennie, co stymuluje wzrost fizjologicznej flory jelitowej [14].

Proces immunomodulacji za pośrednictwem laktoferyny polega na wzmacnianiu fagocytozy, mechanizmu wychwytywania i wchłaniania drobnych cząsteczek organicznych (w tym wirusów, bakterii, pierwotniaków i grzybów) przez makrofagi. Pod wpływem laktoferyny do-

chodzi w nich do wytworzenia się tlenu azotu, który neutralizuje chorobotwórcze mikroorganizmy. Laktoferyna wykazuje działanie antyrodnikowe. Stymuluje różnicowanie i proliferację enteroocytów [15, 16].

Po zakażeniu laktoferyna wykazuje silne działanie immunotropowe: stymuluje komórki układu immunologicznego do szybkiego dojrzewania i regulacji odpowiedzi odpornościowej.

Laktoferyna występuje w mleku kobiecym w stężeniu 1 mg/ml, a także w wielu innych płynach ustrojowych. Szczególnie wysokie stężenie osiąga w sianie.

Tab. 1. Zmienność zawartości laktoferyny w mleku ssaków [17, 18].

Ludzka*		Bydlęca**	
Dni życia	hLf mg/mL	Tygodnie życia	bLf mg/mL
0–5 colostrum	5,05	0–1 colostrum	0,7328
5–15	3,30	2	0,6047
16–30	2,31	4	0,5411
31–60	1,95	6	0,4027
61–90	1,89	8	0,3503

*hLf human lactoferrin, laktoferyna ludzka,

** bLf bovine lactoferrin laktoferyna bydlęca

Laktoferyna bydlęca lub rekombinowana pozyskiwana z *Lactobacillus rhamnosus* GG została uznana przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (ma certyfikat GRAS) [19] oraz przez EFSA Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności za preparat bezpieczny [20]. W metaanalizie Cochrane z 2017 roku sugerowano korzystny efekt suplementacji laktoferyną na redukcję występowania posocznicy o późnym początku oraz martwiczego zapalenia jelit II i III stopnia według Bella [21].

Jednakże przeprowadzone w Anglii w latach 2014–2017 kolejne badanie z randomizacją Enteral Lactoferrin in Neonates (ELFIN), obejmujące 2203 przedwcześnie urodzonych noworodków, nie potwierdziło wcześniejszych obserwacji. Wykazano, że suplementacja dojelitowa laktoferyną bydlęcą nie zmniejsza u wcześniaków ryzyka zakażenia o późnym początku. Dane te nie potwierdzają tezy o korzyściach rutynowego stosowania laktoferyny wołowej w zapobieganiu późnej infekcji i związanej z nią chorobowości lub śmiertelności wcześniaków [22, 23].

Mając na uwadze udokumentowane działania przeciwbakteryjne, przeciwzapalne oraz immunomodulujące laktoferyny naturalnej, należy wykorzystywać potencjał mleka kobiecego przez wczesne podanie siary i długotrwałe karmienie piersią. Opóźnienie podania siary noworodkom urodzonym przedwcześnie pozbawia je ochronnego efektu biologicznego laktoferyny.

PROBIOTYKI I POSTBIOTYKI

Najczęściej badanym i dodawanym do modyfikowanych mlek probiotykiem był *B. animalis ssp lactis* CNCMI-3446 (wcześniej nazywany *B. bifidum*, *B. lactis* Bb12), stosowany pojedynczo lub w połączeniu ze *Streptococcus thermophilus* lub *Lactobacillus helveticus*. Innymi ocenianymi i badanymi probiotykami były: *L. acidophilus johnsoni* La1, *B. longum* BL999, *L. rhamnosus* LPR, *L. rhamnosus* GG, *L. reuteri* ATCC 55 730, *L. salivarius* CEC T5713. Komitet ds. Żywienia ESPGHAN nie zaleca rutynowego stosowania mleka modyfikowanego zawierającego probiotyki do mieszanek sztucznych dla niemowląt. Probiotyki dodawane do mieszanek sztucznych przeznaczonych dla niemowląt we wczesnym okresie życia co prawda nie mają niekorzystnego wpływu na ich rozwój fizyczny ani nie wykazują innych działań niepożądanych, ale też nie wiążą się z żadnymi jednoznacznie korzystnymi efektami klinicznymi. U nieco starszych niemowląt podawanie mleka początkowego lub następnego z probiotykami daje pewne korzyści, takie jak: zmniejszenie ryzyka zakażeń przewodu pokarmowego, mniejsze zużycie antybiotyków, mniejsza częstość występowania kolki i/lub rozdrażnienia. Brakuje jednak danych naukowych dotyczących odległych efektów wzbogacania mleka modyfikowanego probiotykami. Zwłaszcza że opisywane korzyści nie utrzymują się po zakończeniu stosowania probiotyku. Ponadto, podobnie jak w przypadku prebiotyków, nie można ekstrapolować danych na temat bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej jednego drobnoustroju probiotycznego na inne probiotyki.

CYTOKINY, CHEMOKINY I CZYNNIKI TROFICZNE

Cytokiny obecne w pokarmie kobiecym mogą pochodzić z krwi matki, w większości jednak są produkowane miejscowo przez komórki nabłonka przewodów mlecznych oraz obecne w mleku krwinki białe, limfocyty i makrofagi. Czynniki chemotaktyczne i specyficzne molekuly adhezyj-

ne produkowane w obrębie gruczołu piersiowego powodują napływ krwinek białych z krążenia do gruczołu i miejscowe wytwarzanie białek o aktywności immunologicznej. Mleko ludzkie zawiera wiele różnych komórek, które mogą produkować cytokiny w mleku, a nawet w obrębie jelita dziecka; w *colostrum* ich liczba wynosi 10^7 , natomiast 10^5 w mleku dojrzałym [24].

Jednymi z pierwszych opisanych cytokin są interleukina 1 i obecna w dużej ilości w siarze IL 1β . Interleukina 10 jest kluczową cytokiną immunoregulacyjną i przeciwzapalną. Interferon (IFN)- γ także został zidentyfikowany w mleku ludzkim. Jest wydzielany przez limfocyty T, komórki NK (ang. natural killer) po pobudzeniu antygenem wirusowym. W znacznie mniejszych stężeniach wykryto w mleku matki IFN- α oraz IFN- β .

Czynniki stymulujące kolonie komórkowe to wysoko wyspecjalizowane białka regulujące proliferację i różnicowanie linii komórkowych szeregu czerwokrwinkowego (ang. hematopoietic growth factor – HGF), a także granulocytów i makrofagów (ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – GM-CSF) oraz makrofagów (ang. macrophage colony-stimulating factor – M-CSF). Ich produkcja następuje w komórkach nabłonkowych przewodów mlecznych i pozostaje pod kontrolą żeńskich hormonów płciowych [25].

Czynnik hamujący wzrost leukocytów (ang. leukemia inhibitory growth factor – LIGF) oraz czynnik wzrostu fibroblastów (fibroblast growth factor – FGF) wpływają na wzrost, strukturę i funkcję jelita, w tym na stymulację dojrzewania bariery nabłonkowej jelita. Inne, jak czynnik wzrostu łożyska (placenta growth factor – PGF), wpływają na właściwe unaczynienie ściany jelita.

Transformujący czynnik wzrostu B (ang. transformer growth factor – TGF B) występuje w osoczu i mleku matki w trzech izoformach. TGF B reguluje zjawiska tolerancji pokarmowej, modulując odporność związaną z błonami śluzowymi. TGF B przyczynia się do zwiększenia populacji komórek produkujących przeciwciała IgA, tym samym istotnie wpływa na dojrzewanie tkanki limfatycznej systemu GALT. Immunosupresyjne działanie tej cytokiny powoduje ograniczenie reakcji zapalnej w przebiegu ciężkich zakażeń w obrębie przewodu pokarmowego, na przykład w martwiczym zapaleniu jelit.

W mleku kobiecym znajdują się także czynniki stymulujące powstawanie, dojrzewanie i rozwój komórek nerwowych ośrodkowego układu nerwowego oraz neuronów obwodowych, zwłaszcza w obrębie przewodu pokarmowego. Są to: czynnik wzrostu pochodzenia mózgowego

(brain-derived neurotrophic factor – BDNF), czynnik wywodzący się z komórek gleju (glial cell line-derived neurotrophic factor – GCLNF), neurotropina-3 (neurotrophin-3), neurotropina-4 (neurotrophin-4) oraz czynnik neurotropowy dla komórek rzęskowych (ciliary neurotrophic factor – CNTF) [26, 27].

CHEMOKINY

Cytokiny o aktywności chemotaktycznej działają przez aktywację różnych komórek linii białokrwinkowej: limfocytów, niedojrzałych komórek dendrytycznych, komórek NK, makrofagów i limfocytów B. Chemokiny wyznaczają gradient chemotaktyczny, który umożliwia podążanie leukocytów do miejsca zapalenia. IL8 i peptyd α to głównie czynniki chemotaktyczne dla neutrofilii. Są one produkowane przez komórki nabłonka gruczołów mlecznych oraz komórki mleka.

Inne molekuly działające jako czynniki chemotaktyczne dla monocytów, mastocytów i eozynofili to czynniki uwalniające histaminę. Białko zapalne makrofagów 1 α (ang. macrophage inflammatory protein – MIP-1 α) i RANTES (ang. regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted) aktywują limfocyty NK, limfocyty T, eozynofile, mastocyty i monocyty.

BIOLOGICZNA FUNKCJA CYTOKIN

Dzięki obecnym w mleku antyproteazom interleukiny 1 i 8 nie ulegają trawieniu w przewodzie pokarmowym i mogą przenikać przez błonę śluzową jelita.

Interleukina 1 inicjuje proces zapalny, pobudza wytwarzanie interleukiny 6. Il 1 i INF γ wpływają na gruczoł piersiowy matki, stymulując produkcję sIgA i innych cytokin. IL 6 indukuje zapalenie, neutralizuje przeciwciała, a także wpływa hamująco na produkcję IgA przez blokowanie komórek mononuklearnych. IL-8 charakteryzuje się właściwościami prozapalnymi. Odgrywa szczególną rolę w przemieszczaniu się limfocytów, monocytów i granulocytów z krążenia matki do jej mleka i dalej w przekraczaniu ściany jelita noworodka.

TNF α jest cytokiną prozapalną. Stymuluje monocyty do produkcji IL-6 oraz inaktywuje makrofagi. Do mleka jest wydzielana przez makrofagi i komórki nabłonka przewodów mlecznych. Il 10 jest cytokiną immunosupresyjną, uczestniczy w wygaszaniu odpowiedzi odpornościowej i wytwarzaniu immunotolerancji. Jej aktywność biologiczna w mleku jest wiązana z hamującym wpływem na proliferację limfocytów.

Odgrywa krytyczną rolę w utrzymaniu bariery jelitowej i odpowiedzi immunologicznej na obce antygeny [28].

Chemokiny aktywują neutrofile w błonie śluzowej jelit, odgrywają szczególnie dużą rolę w obronie przeciwbakteryjnej. Chemokiny RANTES, MIP-1 α i MIP-1 β , wydzielane przez limfocyty T CD4+, są ważnymi czynnikami obrony przeciwvirusowej, blokują bowiem transmisję tych patogenów przez przewód pokarmowy. RANTES to chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T, wykazuje działanie prozapalne przez aktywację, chemotaksję, adhezję limfocytów T oraz ich migrację poprzez śródbłonek (*endothelium*). Cytokiny te odgrywają dużą rolę w dojrzewaniu struktury i funkcji jelita cienkiego noworodków oraz modulowaniu reakcji zapalnej zarówno w okresie noworodkowym, jak i w późniejszym wieku.

Zawarte w pokarmie matki cytokiny mają działanie przeciwzapalne oraz stabilizujące homeostazę komórek błon śluzowych nie tylko w obrębie przewodu pokarmowego dziecka, ale też nabłonka przewodów mlecznych gruczołu piersiowego matki. Takie działanie wykazują tkankowe inhibitory metaloproteinaz (ang. tissue inhibitor of metalloproteinases-1, -2 – TIMP-1, TIMP-2) oraz chemokina związana z makrofagami (ang. macrophage-derived-chemokine – MDC) [29].

CZYNNIKI WZROSTU W MLEKU KOBIECYM

Transformujące czynniki wzrostu β 1 i β 2 (TGF β 1 i TGF β 2) mleka kobiecego wywierają stymulujący i stabilizujący wpływ na funkcję i integralność błony śluzowej jelita cienkiego noworodków i niemowląt. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że grupa transformujących czynników wzrostu wpływa na szeroko pojętą homeostazę ściany jelita, reguluje bowiem procesy zapalne i reakcje nadwrażliwości, tym samym wpływa korzystnie na tolerancję pokarmu. Czynniki wzrostowe wywierają korzystny wpływ na tworzenie, dojrzewanie, strukturę i funkcję błon śluzowych przez działanie mitotyczne, stymulując syntezę DNA komórek. Działanie protekcyjne nabłonkowego czynnika wzrostu (ang. epidermal growth factor – EGF) jest szczególnie aktywne u noworodków przedwcześnie urodzonych. Czynniki stymulujące kolonie makrofagów i granulocytów odgrywają ważną rolę w proliferacji, dojrzewaniu i w rozwoju makrofagów mleka kobiecego. Szczególnie aktywny pod tym względem są M-CSF, które ponadto stymulują produkcję antagonisty receptora interleukiny 1, czyli makromolekuly o działaniu przeciwzapalnym, obecnej w mleku ludzkim [30–32].

Grupa peptydów o działaniu stymulującym wzrost naczyń krwionośnych (ang. vascular endothelial growth factor – VEGF, basic fibroblast growth factor – b-FGF, insulin-like growth factor -I – IGF-I, platelet-derived growth factor – PDGF) występuje w mleku matek wcześniaków w wyższym stężeniu niż w mleku matek, które urodziły o czasie [33]. Rodzina IGF bierze udział w tzw. wczesnym programowaniu żywieniowym, to jest wspólnie z wieloma czynnikami socjoekonomicznymi stanowi o przyszłym metabolizmie człowieka i występowaniu takich chorób cywilizacyjnych, jak otyłość i jej konsekwencje.

Odkrywana jest istotna rola erytropoetyny zawartej w mleku kobiecym w utrzymaniu integralności błony śluzowej jelita cienkiego u noworodków. Erytropoetyna wpływa na utrzymanie tzw. połączeń ścisłych (ang. tight junctions – TJs) między enterocytami przez stymulację ekspresji tzw. białka ZO-1. W badaniach eksperymentalnych doustne stosowanie erytropoetyny zmniejszało występowanie NEC z 45 do 23% [34].

IMMUNOGLOBULINA SIGA

Wytwarzana jest w gruczole piersiowym przez limfocyty B po ich kontakcie z patogenami obecnymi w przewodzie pokarmowym i układzie oddechowym matki. Limfocyty te następnie przemieszczają się do tkanki gruczołu sutkowego przez układ limfatyczny w procesie znanym jako „homing” lub drogą oskrzelowo-sutkową [35].

sIgA jest dominującą immunoglobuliną w mleku matki, szczególnie w sianie. Jej stężenie wynosi 12 mg/ml, natomiast w mleku dojrzalym 1 mg/kg. Niemowlęta karmione piersią otrzymują każdego dnia 0,5–1 mg sIgA. Stężenie IgA małe w miarę dojrzewania własnego systemu immunologicznego. sIgA jest odporna na działanie enzymów trawiennych w układzie pokarmowym dziecka, nie ulega wchłanianiu i z tego powodu może działać miejscowo na przewód pokarmowy. W pierwszych dniach po urodzeniu jelita dziecka są przepuszczalne dla sIgA, mimo dużej cząsteczki. Następnie, w miarę uszczelniania przestrzeni między enterocytami, transfer ten staje się niemożliwy. Uszczelniające się jelito stanowi barierę dla patogenów. Spośród wszystkich immunoglobulin sIgA stanowi główną barierę ochronną jelit. Mechanizm działania ochronnego sIgA polega na unieruchamianiu patogenów, hamowaniu ich adhezji do ściany jelita oraz neutralizacji toksyn i czynników wirulencji.

sIgA blokuje takie patogeny dróg oddechowych, jak *S. pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* oraz wirusy grypy. Mleko matki zawiera

też przeciwciała chroniące przed wieloma patogenami przewodu pokarmowego, takimi jak *Vibrio cholerae*, *Campylobacter*, *Giardia lamblia* i *Shigella* [36].

OSTEOPONTYNA (OPN)

Jest fosforylowaną glikoproteiną złożoną z około trzystu aminokwasów. Zawiera domeny Arg-Gly-Asp (RGD) i pozbawione tej sekwencji (non-RGD) miejsca wiążące integryny w N-końcowych i centralnych regionach oraz domeny wiążące CD44 w regionie C-końcowym. Wyróżniamy dwa rodzaje OPN: formę sekrecyjną wydzielaną do większości płynów ustrojowych (mleko kobiece, mocz, krew, ślina, żółć) oraz białko o charakterze wewnątrzkomórkowym, wytwarzane głównie przez komórki układu immunologicznego. Receptory dla OPN są zlokalizowane w różnych komórkach organizmu, m.in. w osteoblastach, osteocytach, komórkach nabłonka, komórkach endotelialnych, fibroblastach, komórkach układu immunologicznego. Działając na znajdujące się na powierzchni komórek integryny i receptory, OPN wpływa na biomineralizację, remodeling tkanek i regulację odporności organizmu, a zróżnicowana lokalizacja ma bezpośrednie przełożenie na plejotropowe działanie tego białka [37].

Kluczową kwestią w kontekście rozwoju noworodków jest zawartość OPN w mleku kobiecym. Stężenia tego białka wahają się w zależności od rodzaju mleka produkowanego aktualnie przez kobietę. W sianie wynosi ono około 178 mg/L, w mleku przejściowym wartość ta spada do około 134 mg/L, następnie po około 12-miesięcznej laktacji obniża się do 48,3 mg/L. Mleko krowie i gotowe preparaty dla niemowląt stanowią uboższe źródło tego składnika, odpowiednio około 18 i 9 mg/L [38].

Osteopontyna zawarta w mleku jest stosunkowo odporna na działanie enzymów trawiennych i kwasów żołądkowych noworodka. To powoduje, że część białka przyjmowanego z pokarmem jest transportowana do surowicy, przez co glikoproteina ta wykazuje nie tylko miejscowe, ale również ogólnoustrojowe działanie. OPN, wiążąc się bezpośrednio z receptorami na powierzchni komórek nabłonkowych jelita, prowadzi do ich proliferacji, różnicowania i stymulacji odporności bariery jelitowej przez up-regulację sekrecji IL-18. Właściwość tę udowodniono zarówno dla OPN pochodzącej z mleka krowiego, jak i uzyskanej z pokarmu kobiecego. We wczesnym okresie życia OPN jest obficie wyrażana w mózgu. Badania *in vitro* na mózгах mysich zarodków wykazały, iż OPN zwiększa syntezę mielinę oraz tworzenie nowych otoczek mielinowych. Dalsze eksperymenty dowiodły również, że zwiększona ekspresja OPN w mózgu prowadzi do wzrostu eks-

presji białek związanych z mielinizacją oraz zwiększonej proliferacji i różnicowania gleju NG-2 do oligodendrocytów [39].

Wyniki te pokazują, że mleko bogate w OPN w wyniku wspomagania mielinizacji nerwów może odgrywać ważną rolę w rozwoju ośrodkowego układu nerwowego i kształtować zachowania w okresie niemowlęcym. Poziom stężenia OPN w pokarmie może więc być jednym z czynników wpływających na lepszy rozwój poznawczy niemowląt karmionych piersią w porównaniu z niemowlętami karmionymi gotowymi mieszankami.

OPN ma znaczący wpływ na regulację rozwoju limfocytów T. Wspiera tworzenie się komórek Th1 i działa supresyjnie na komórki Th2. Niektóre badania sugerują także rolę OPN w przebiegu chorób autoimmunologicznych, w niektórych rodzajach raka i chorobach układu krążenia. W randomizowanym badaniu klinicznym, przeprowadzonym na niemowlętach w wieku 1–6 miesięcy, wykazano pozytywny wpływ OPN zawartej w mleku na rozwój układu immunologicznego. Dzieci podzielono na grupy: niemowlęta karmione piersią, karmione standardową mieszanką mleczną oraz przyjmujące pokarm suplementowany odpowiednio 65 i 130 mg/L OPN. U niemowląt 4- i 6-miesięcznych wyższe stężenia OPN w surowicy były wykrywane w grupach dzieci karmionych piersią i mieszankami suplementowanymi w porównaniu z dziećmi spożywającymi mieszanki standardowe. Ponadto u dzieci karmionych suplementowanym pokarmem odnotowano znacząco niższe osoczowe stężenia TNF- α jak również krótszy czas chorowania. Wyniki te sugerują, iż przyjmowanie pokarmu z dodatkiem OPN może wywierać korzystne działanie przez stymulację syntezy endogennej formy białka [23, 39].

BLONY KULECZEK TŁUSZCZOWYCH MLEKA (MFGM)

Podczas laktacji w komórkach nabłonka mlecznego gruczołów sutkowych, w siateczce endoplazmatycznej, powstają pęcherzyki wypełnione trójglicerydami, które następnie przemieszczają się do powierzchni komórki i są wydzielane do światła pęcherzyka mlecznego. W ten sposób tworzą się MFGM (ang. milk fat globule membrane), które umożliwiają przenoszenie tłuszczu do mleka w postaci jednorodnego roztworu. MFGM to złożone struktury składające się z trójwarstwowej błony lipidowej, w której są zakotwiczone liczne białka. W ostatnich latach udowodniono kluczowy wpływ tego składnika mleka na prawidłowy rozwój układu odpornościowego, układu nerwowego oraz pozytywny wpływ na mikrobiotę jelitową noworodków i niemowląt [40].

Zaobserwowano, że obecność MFGM w mleku przyczynia się do zmniejszenia ryzyka infekcji u noworodków. Istnieją dwa mechanizmy działania tych cząstek: zdolność do zmniejszania adhezji patogenów do nabłonka jelit (efekt wabika) oraz bezpośrednie działanie bakteriobójcze. Udokumentowano, że dzieci karmione mieszankami wzbogaconymi w MFGM rzadziej chorowały na ostre zapalenie ucha środkowego, krócej gorączkowały podczas infekcji i rzadziej cierpiały z powodu biegunki. Wykazano również rzadsze występowanie w jamie ustnej tych dzieci *Moraxella catarrhalis*, głównego patogenu wywołującego zapalenie ucha [41].

W badaniu przeprowadzonym w Peru wykazano zwiększone stężenie wolnych aminokwasów we krwi, co wiązało się z lepszym przyrostem masy ciała niemowląt. Zaobserwowano również modyfikację odpowiedzi immunologicznej na korzyść odpowiedzi typu Th-2 przez obniżenie stężenia cytokin, zwłaszcza IL-2, w surowicy. Ponadto zaobserwowano, że sama obecność MFGM w pokarmie wpływa wspomagająco na rozwój mikroflory jelit oraz stymuluje wzrost korzystnych bakterii jelitowych [42].

Lipidy tworzące MFGM (m.in. fosfolipidy, gangliozydy, sfingomielina, fosfatylocholina) są źródłem energii oraz elementem budulcowym w tworzeniu osłonek mielinowych w rozwijającym się mózgu. Co więcej, bezpośrednio uczestniczą w procesie neurotransmisji synaptycznej, to zaś wpływa stymulująco na rozwój poznawczy [43].

MFGM jako mieszanina niejednorodna może wywoływać wiele pozytywnych efektów biologicznych przez synergistyczne współdziałanie poszczególnych składników. Badania kliniczne potwierdzają korzystny wpływ tej frakcji dodanej do mieszanki na zdrowie i rozwój niemowląt. Frakcja błonowa jest nieodłącznym składnikiem każdego mleka ssaaków, ale jej wartość biologiczna w preparatach dla niemowląt jest tracona z powodu używania olejów roślinnych jako tłuszczu. Zatem dodanie wzbogaczonej frakcji mlecznej może wyrównać tę stratę w preparatach dietetycznych dla niemowląt [44].

PODSUMOWANIE

Standardowe metody oceny odżywienia dziecka obejmują pomiary masy ciała, długości, obwodu głowy, rzadziej skład masy ciała. To ważne parametry antropometryczne, świadczące nie tylko o rozwoju fizycznym dziecka, ale też o potencjale umysłowym, intelektualnym, funkcjach narządów zmysłów i wyższych czynnościach nerwowych. Wielki wpływ na drugą grupę parametrów rozwojowych wywierają składniki bioaktywne pokarmu, które otrzymuje dziecko od pierwszych chwil życia.

Mleko ludzkie zawiera bogactwo tych składników i stanowi wzorzec idealnego pokarmu. Niektóre czynniki biologicznie aktywne, pozyskiwane z mleka zwierzęcego lub z zastosowaniem biotechnologii, są dodawane do sztucznych mieszanek mlecznych. Ich bezpieczeństwo oraz skuteczność krótko- i długoterminowa musi zostać udokumentowana w badaniach klinicznych, zanim uzyskają rekomendację w zaleceniach żywieniowych.

PIŚMIENNICTWO

- Seppo AE, Kukkonen AK, Kuitunen M i wsp. Supplementation with human milk oligosacharyde composition. *JAMA Pediatrics* 2019;173:286–288.
- Bode L, Jantscher-Krenn E. Structure-function relationships of human milk oligosacharydes. *Adv Nutr* 2012;3:383–391.
- Bode L. Human milk oligosacharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012;22:1147–1162.
- Coppa GV, Zampini L, Geleazzi T i wsp. Campylobacter jejuni binds intestinal H (O) antygen (Fuc alpha1, 2Gal beta1, 1,4 GlcAc), and fucosyloligosacharides of human milk inhibit its binding and infection. *J Biol Chem* 2003;278:14112–14120.
- Mc Guire MK, Meehan CL, Mc Guire MA i wsp. What's normal? Oligosacharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geografically. *Am J Clin Nutr* 2017;105:1086–1100.
- Bode L, Rudloff S, Kunz C i wsp. Human milk oligosacharides reduce platelet-neutrofil complex formation leading to a decrease in neutrofil beta 2 integrin expression. *J Leukoc Biol* 2004;76:820–826.
- Bode L, Kunz C, Muhly-Reinholz M i wsp. Inhibition of monocyte, lymphocyte, and neutrofil adhesion to endothelial cells by human milk oligosacharides. *Thromb Haemost* 2004;92:1402–1410.
- Victora CG, Bahl R, Barros AJ, Lancet Breastfeeding Series Group. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet* 2016;387:475–490.
- Autran CA, Kellan BP, Kim JH i wsp. Human milk oligosacharides composition predicts risk of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Gut* 2018;67:294–299.
- Larsson MW, Lind MW, Laursen RP i wsp. Human milk oligosacharides composition is associated with excessive weight gain during exclusive breastfeeding – an explorative study. *Front Pediatr* 2019;7:297.
- Puccio G, Alliet P, Cajozzo C i wsp. Effects of infant formula with human milk oligosacharides on growth and morbidity: a randomized multicenter trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;64:624–631.
- Chambers C, Krogstad P, Bertrand K i wsp. Evaluation for SARS-CoV-2 in breast milk from 18 infected women. *JAMA* 2020;324(13):1347–1348. doi:10.1001/jama.2020.15580
- Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, Pieścik M, Puntis J, Shamir R, Szajewska H, Turck D, van Goudoever J; ESPGHAN Committee on Nutrition. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011;52:238–250.
- Embleton ND, Berrington JE, McGuire W, Stewart CJ, Cummings SP. Lactoferrin: antimicrobial activity and therapeutic potential. *Semin Fetal Neonatal Med* 2013;18:143–149.
- Legrand D. Overview of lactoferrin as a natural immune modulator. *J Pediatr* 2016;173:S10–S15.
- Raghuveer TS, McGuire EM, Martin SM i wsp. Lactoferrin in the preterm infants' diet attenuates iron-induced oxidation products. *Pediatr Res* 2002;52:964–972.
- Lönnerdal B, Erdmann P, Thakkar SK, Sauser J, Destailats F. Longitudinal evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: A developmental perspective. *J Nutr Biochem* 2017;41:1–11.
- Alkudsi NH, Hussein DA. The concentration of lactoferrin and its relationship with minerals and amino acids in the cows milk. *Sci Pap Ser D. Anim Sci* 2016; 59:157–163.
- Office of Food Additive Safety. GRAS notification. Food and Drug Administration. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=669> (assessed 12.10.2020).
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific opinion on bovine lactoferrin. *EFSA J* 2012;10:2701.
- Pammi M, Suresh G. Enteral lactoferrin supplementation for prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;6:CD007137.
- The ELFIN trial investigators group. Enteral lactoferrin supplementation for very preterm infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2019;393:423–433.
- Demmelmaier H, Prell C, Timby N i wsp. Benefits of lactoferrin, osteopontin and milk fat globule membranes for infants. *Nutrients* 2017;9:817. doi:10.3390/nu9080817
- Butler JE, Kehrli ME. Immunoglobulins and immunocytes in the mammary gland and its secretions: W: Mestecky J, Lamm ME, Strober W i wsp. *Mucosal immunology*. 3rd ed. Academic Press. San Diego 2005:1763–1794.
- Goldman AS, Chheda S, Garofalo R. Cytokines in human milk: properties and potential effects upon the mammary gland and the neonate. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1996;1:251–258.
- Chalazonitis A, Pham TD, Rothman TP i wsp. Neurotrophin-3 is required for the survival-differentiation of subsets of developing enteric neurons. *J Neurosci* 2001;21:5620–5636.
- Fichter M, Klotz M, Hirschberg DL i wsp. Breast milk contains relevant neurotrophic factors and cytokines for enteric nervous system development. *Mol Nutr Food Res* 2011;55:1592–1596.
- Howard M, O'Gara, Ishida R i wsp. Biological properties of IL 1-10. *J Clin Immunol* 1992;4:239–247.
- Kverka M, Burianova J, Lodinova-Zadnikova i wsp. Cytokine profiling in human colostrum and milk by protein array. *Clin Chem* 2007;53:955–962.
- Oddy WH, McMahon RJ. Milk-derived or recombinant transforming growth factor-beta has effects on immunological outcomes: a review of evidence from animal experimental studies. *Clin Exp Allergy* 2011;41:783–793.
- Dvorak B. Epidermal growth factor and necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 2004;31:183–192.
- Dvorak B, Fituch CC, Williams CS i wsp. Increased epidermal growth factor levels in human milk of mothers with extremely premature infants. *Pediatr Res* 2003;54:15–19.
- Collado MC, Santaella M, Mira-Pascual L i wsp. Longitudinal study of cytokine expression, lipid profile and neuronal growth factors in human breast milk from term and preterm deliveries. *Nutrients* 2015;7:8577–8591.
- Shiou SR, Yu Y, Chen S i wsp. Erythropoietin protects intestinal epithelial barrier function and lowers the incidence of experimental neonatal necrotizing enterocolitis. *J Biol Chem* 2011;286:123–132.
- Brandtzaeg P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. *Vaccine* 2003;21:3382–3388.
- Andreas NJ, Kampmann B, Le-Doare KM. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev* 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
- Jiang R, Lönnerdal B. Effects of milk osteopontin on intestine, neurodevelopment, and immunity. In: Ogra PL, Walker WA, Lönnerdal B: *Milk, Mucosal Immunity and the Microbiome: Impact on the Neonate*. Nestlé Nutr Inst Workshop Ser. Basel, Karger, 2020, vol 94, pp 152–157 (DOI:10.1159/000505067)
- Jiang R, Lönnerdal B. Osteopontin in human milk and infant formula affects infant plasma osteopontin concentrations. *Pediatr Res* 2019;85:502–505.
- Lönnerdal B i wsp. Growth, nutrition, and cytokine response of breast-fed infants and infants fed formula with added bovine osteopontin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2016;62: 650–657.

40. Hernell O, Timby N, Domellöf M i wsp. Clinical benefits of milk fat globule membranes for infants and children. *Journal of Pediatrics* 2016;173:S60–S65.
41. Hernell O, Lönnerdal B, Timby N Milk Fat Globule Membranes: Effects on Microbiome, Metabolome, and Infections in Infants and Children. In: Ogra PL, Walker WA, Lönnerdal B: Milk, Mucosal Immunity and the Microbiome: Impact on the Neonate. Nestlé Nutr Inst Workshop Ser. Basel, Karger, 2020, vol 94, pp 133–140 (DOI:10.1159/000505066)
42. Lee H, Zavaleta N, Chen SY i wsp. Effect of bovine milk fat globule membranes as a complementary food on the serum metabolome and immune markers of 6–11-month-old Peruvian infants. *NPJ Sci Food* 2018;2:6.
43. He X, Parenti M, Grip T i wsp. Metabolic phenotype of breast-fed infants, and infants fed standard formula or bovine MFGM supplemented formula: a randomized controlled trial. *Sci Rep* 2019;9:339.
44. Timby, N.; Domellöf, E.; Hernell, O.; Lönnerdal, B.; Domellöf, M. Neurodevelopment, nutrition, and growth until 12 months of age in infants fed a low-energy, low-protein formula supplemented with bovine milk fat globule membranes: A randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2014;99: 860–868.

data przyjęcia pracy – 5.11.2020
data akceptacji – 25.11.2020