

Oligosacharidy mateřského mléka a střevní mikrobiota

MUDr. Jan Boženský

Dětské oddělení Nemocnice AGEL Ostrava-Vítkovice, a. s.

Mateřské mléko obsahuje přibližně 200 komplexních oligosacharidů (human milk oligosaccharides – HMO), o nichž se předpokládá, že stimulují růst a tvorbu ochranné mikrobioty ve střevech kojenců. Od objevu HMO před více než 60 lety čelil výzkum mnoha problémům. Ale za posledních 10 let došlo v těchto oblastech k pokroku. Na základě experimentů in vitro, studií na zvířatech a několika studií na lidech bylo objeveno mnoho funkcí HMO. V tomto článku se zaměřujeme na potenciál HMO ovlivnit mikrobiální složení v gastrointestinálním traktu, vývoj imunity dětí nebo epigenetické změny, které mohou ovlivnit zdraví v dospělosti.

Klíčové slova: mateřské mléko, oligosacharidy mateřského mléka, mikrobiota, imunita u dětí, epigenetické změny.

Human milk oligosaccharides and gut microbiota

Human milk contains approximately 200 complex oligosaccharides believed to stimulate the growth and establishment of a protective microbiota in the infant gut. Since the discovery of human milk oligosaccharides (HMO) more than 60 years ago, research has faced a lot of problems. But in the last 10 years, there has been made progress in these areas. Based upon in vitro experiments, animal studies, and a few studies in humans, many functions of HMO have been discovered. In this article, we focus on the potential of HMO to influence the microbial composition in the gastrointestinal tract, development of children immunity or epigenetic changes, which can influence health in adulthood.

Key words: human milk, human milk oligosaccharides, microbiota, children immunity, epigenetic changes.

Úvod

Industrializace v posledních desetiletích vedla k výrazným změnám životního stylu. Tento vývoj a dostupnost antibiotické terapie narušily složení střevní mikrobioty tak, že změny v bakteriální rovnováze (dysbióza) se pak mohou podílet na rozvoji mnohých onemocněních spojených s poruchou vývoje imunitního systému (např. atopie či metabolický syndrom). Stále více se ukazuje vztah mezi vývojem střevní mikrobioty u dítěte a mikrobiotou maminky. Tedy nejen genetická výbava matky, ale i její strava, životní prostředí (polutanty, ATB), typ porodu a výživa dítěte se mohou podílet na formování mikrobioty dítěte. Během prvních dvou let života potřebují kojen-

ci získat vhodné bakterie pro vytvoření zdravé mikrobioty v jejich střevním traktu. Tyto bakterie můžeme považovat za samostatný orgán, který má zásadní význam pro jejich lidského hostitele. Podílí se na nejen „biodegradaci“ potravin (trávení), syntéze vitamínů (B12, K), modulaci imunitního systému, ale i na stimulaci některých metabolických funkcí (1, 2).

Střevní mikrobiota a imunitní systém

Změny střevní mikrobioty jsou spojeny s řadou chorob, od ulcerózní kolitidy až po metabolická onemocnění typu obezity (3). Možná příčinná souvislost mezi mikroby a těmito nemocemi nám umožňuje hledat

a sledovat změny, které ohrožují zdravou funkčnost mikrobioty. Některé studie dokonce identifikovaly střevní mikrobiotu v raném životě jako prediktor alergií (4), diabetu 1. typu (5) a obezity (6). Změny mikrobioty mohou ovlivnit pozdější zdraví změnou dospělé mikrobioty nebo ovlivněním vývoje raného života s celoživotními důsledky (7). Např. mikrobiální dysbióza v novorozeneckém věku je spojována s rizikem atopie v pozdějším věku (8).

Střevní mikrobiota a alergie

Prevalence alergie u dětí bez pozitivní rodinné anamnézy je kolem 10 % a stoupá až na 30 % u dětí s výskytem alergie u příbuzných (9). Existuje souvislost mezi

INZERCE

bakteriálním složením mikrobioty a vývojem imunitního systému bez alergií (10). Výsledky studií potvrzují, že děti s alergií mají jinou střevní mikrobiotu než děti bez alergie (11).

Střevní mikrobiota a alergie na bílkovinu kravského mléka

Alergie na bílkovinu kravského mléka (ABKM) je imunitně zprostředkované onemocnění charakterizované imunologickou nerovnováhou na úrovni Th1/Th2, zvýšenou propustností střevní sliznice a změnou střevní mikrobioty (dysbióza) (12). Snížená funkce střevní bariéry v kombinaci s patologicky nastaveným imunitním systémem může být základem patogeneze ABKM. Studie prokazují spojitost mezi alergií a změnami mikrobioty, kdy kojenci s ABKM mají ve stolici výrazně vyšší podíl klostridií a dalších patogenních druhů ve srovnání se zdravými dětmi. To může ukazovat vazbu mezi dysbiózou střevní mikrobioty a patogenezí ABKM. Zvýšená propustnost střeva a dysbióza ovlivňují zrání imunitního systému a mohou zvyšovat riziko rozvoje dalších zdravotních potíží, jako jsou infekce a alergie (13, 14).

Časná mikrobiální kolonizace

Ukazuje se, že vývoj střevní mikrobioty se shoduje s fyzickým, kognitivním a imunitním vývojem během prvních 1 000 dnů života (15). Kdy začíná interakce mezi mikrobiotou a vývojem dítěte, je zatím velmi diskutované téma, protože mnohá data nejsou přesvědčivá, zda děti přicházejí do styku s bakteriemi ještě před narozením (16). Spekulace o in utero mikrobiální expozici je založena na vzorcích odebraných po narození, protože odběr vzorků během těhotenství je obtížný. V těchto studiích byly bakterie detekovány v placentě, plodové vodě, pupečníku a mekoniu (17). Tato data mohou odpovídat v některých případech možné kontaminaci při odběrech a souviset s mikrobiálním osídlením při a po porodu (18). Takové výsledky studií zatím brání přijetí teorie široké prenatální mikrobiální expozice (19) a stále existuje hypotéza sterilního prostředí v děloze během fyziologického těhotenství (20). Bez ohledu na možnou mikrobiální kolonizaci před narozením, mikrobiota matky rozhodně určuje mikrobiální prostředí a imunologické nastavení, kterému je dítě během tohoto období vystaveno, a to i po narození.

Prebiotika

Pro vytváření a udržení odpovídající střevní mikrobioty je nutné připravit správné podmínky. Dostatečný příjem nestravitelných oligosacharidů (prebiotik) pak může zajistit potřebný energetický příjem pro růst probiotik a tím pomáhat vytvářet přirozenou mikrobiální rovnováhu. Zvláště po porodu, v období prvních dvou let, má tento proces zásadní vliv nejen na aktuální zdravotní stav dítěte, ale i na jeho další vývoj v dospělosti. Nestravitelné oligosacharidy mohou ovlivnit nejen frekvenci či kvalitu stolice, ale prostřednictvím střevní mikrobioty i nastavení imunitního systému. Takto nastavený imunitní systém může ovlivnit nejen obranyschopnost organismu, chování a psychickou pohodu, ale i prostřednictvím epigenetických změn i projevy některých nemocí v dospělosti.

Laktóza

Laktóza je disacharid někdy označovaný jako mléčný cukr, který tvoří podle druhu mléka 2–8 % pevných látek v mléce. Laktóza mateřského mléka zvyšuje obranyschopnost (zvláště proti gastrointestinálním infekcím) prostřednictvím antimikrobiálních peptidů (AMP), kdy dochází ke zvýšení tvorby butyrátu (SCFA – mastné kyseliny s krátkým řetězcem) (21). SCFA (butyrát, acetát a propionát) jsou organické kyseliny produkované ve střevech bakteriální fermentací (22). U dětí s potravinovými alergiemi byla v roce života pozorována nízká hladina fekálního butyrátu

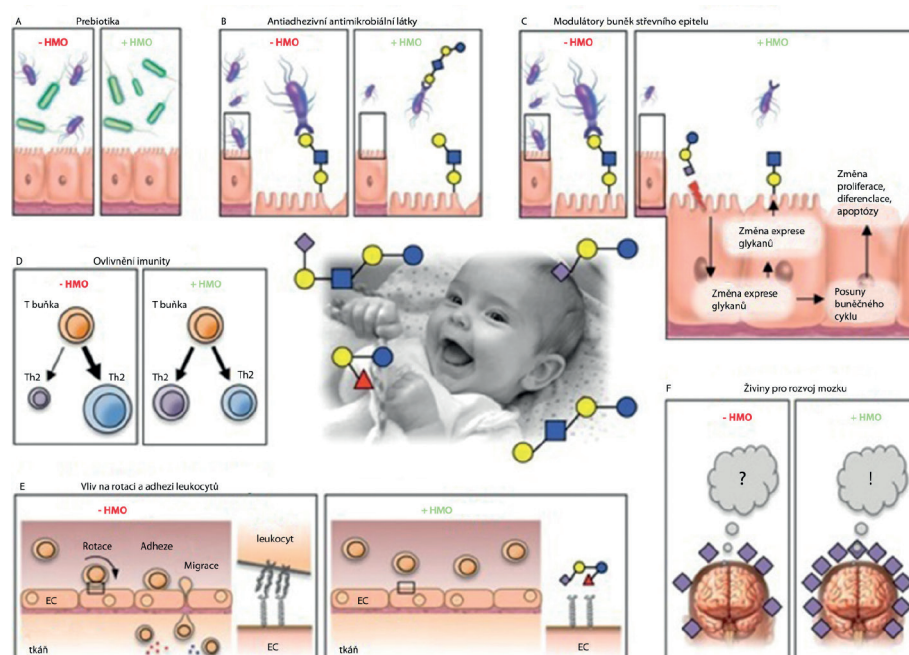
(23). Kojenecké výživy obsahující laktózu prokazatelně zvyšují množství typu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, které pak dosahují množství nalezené u zdravých kojených dětí. Také signifikantně snižují množství bakterií typu *Clostridium* a *Bacteroides*. Laktóza signifikantně zvyšuje koncentraci celkových SCFA – zvláště acetátu a butyrátu. Potvrzuje tak svoji potenciální podporu bakterií produkujících SCFA a tím svoji schopnost pomoci obnovit zdravou mikrobiotu (24).

Oligosacharidy mateřského mléka

Oligosacharidy mateřského mléka (HMO) jsou po mléčném cukru a tukách třetí největší složkou MM (25). Produkce HMO je geneticky podmíněná a není závislá na stravě matky. Různá exprese genů zapojených do prodloužení řetězce HMO, větvení, sialylace a zejména fukosylace pak vede k odlišnému složení HMO, přičemž ženy syntetizují různé podskupiny oligosacharidů. HMO jsou tedy nestravitelné sacharidy s nízkou nutriční densitou, avšak s vysokou schopností ovlivnit střevní mikrobiotu. Mohou působit jako falešné receptory pro patogenní bakterie, mají schopnost měnit propustnost střevní bariéry, mají vliv na přirozený vývoj imunitního systému a dokonce se ukazuje i možný vliv na vývoj CNS (26).

V průběhu laktace se mění celkové množství HMO i jeho složení. V počátečních stadiích produkce mléka obsahuje kolostrum 20 až 25 g/l HMO.

Obr. 1. Upraveno dle Bode L., 2012



Postupem času a v době zrání mléka klesá koncentrace HMO v mateřském mléce na 5 až 15 g/l. Důkazy naznačují, že některé HMO v kolostru mají odlišnou strukturu a jsou přítomny ve vyšších koncentracích než ve zralém mléce (27). HMO jsou složeny z pěti základních stavebních kamenů, tj. **kyseleliny sialové, N acetylglukosaminu, L fukózy, D glukózy a D galaktózy**. Jejich kombinací vzniká více než 200 různých oligosacharidů (28). Důležitou roli hraje gen pro enzym **fukosyltransferázu 2 (FUT2)**, která modifikuje strukturu a množství HMO v MM. V Evropě se tento gen vyskytuje asi u 80 % žen (secretor) a u zbylých se 2'-fukosyllaktóza v jejich mléku prakticky nevyskytuje (nonsecretor). Další úlohu při složení HMO bude hrát enzym **fukosyltransferáza 3 (FUT3)**, kdy je jeho aktivace závislá na tzv. Lewisově krevní skupině a Lewis negativní skupina (Lewis -) má signifikantní nižší produkci 3'-fukosyllaktózy než u matek s Lewisovou krevní skupinou (Lewis +). Antigeny tohoto systému byly poprvé popsány v roce 1946. Dva hlavní antigeny tohoto systému Lea a Leb nejsou alelické a jejich vznik je podobný vzniku antigenů u ABO systému. Produktem genu Le, FUT3 (19p 13.3) je fukosyltransferáza, která mění řetězec H-prekurzoru typu 1 (za vzniku Lea) a/nebo H řetězec typu 1 (za vzniku Leb). Konečný fenotyp tak závisí i na účinnosti genu Se (FUT2). Vzájemnou kombinací pak mohou vznikat čtyři skupiny matek s odlišnou strukturou produkce HMO (1. skupina secretor, Lewis +, 2. skupina secretor, Lewis -, 3. skupina nonsecretor,

Lewis +, 4. skupina nonsecretor, Lewis -) (29). Studie ukazují, že kolonizace bifidobakteriemi je snížena u kojenců matek s chyběním genu pro enzym fukosyltransferázu 2 (FUT2) ve srovnání s dětmi maminek s expresí tohoto genu (30) zejména pokud se narodí prostřednictvím operačního porodu (31). Největší množství HMO, až 30 % (29), je 2'-fukosyllaktózy, která byla spolu s laktoN-neotetraózou syntetizována a jako první HMO zkušebně přidána do kojeneckých mléčných formulí. V roce 2015 European Food Safety Agency (EFSA) potvrdila bezpečnost jejich podávání pro kojence v dávkování do 1,2 g/l pro 2'-fukosyllaktózu (2'-FL) a do 0,6 g/l pro laktoN-neotetraózu (LNnT) v poměru 2 : 1 v rekonstituované formuli. Stejně hodnoty platí pro pokračovací mléka a batolecí mléka pro děti starší 1 roku. První studie prokázaly, že děti krmené formulí fortifikovanou směsí 2'-FL a LNnT měly normální růstový vzorec, normální defekaci a žádné nežádoucí účinky (32). Také děti krmené touto formulí (1,0 g/l 2'-FL a 0,5 g/l LNnT) měly méně infekcí dýchacích cest souvisejících s používáním antibiotik v prvním roce života (33). Další studie prokázaly, že přidávání 2'-FL do kojenecké výživy bylo bezpečné, dobře tolerované, absorbované a vylučované s podobnou účinností jako 2'-FL v lidském mléce. Kojenci, kterým byla podávána výživa obohacená o 2'-FL, měli méně respiračních infekcí hlášených rodiči a zlepšenou toleranci formulí (32). Studie na animálních modelech prokazuje pozitivní synergický efekt kombinace 2'-FL a

směsi prebiotik při rotavirové infekci (34). Kojenecká výživa obohacená 2'-FL +GOS vykazovala stejné zánětlivé cytokinové profily (ILF, TNF) jako kontrolní skupina kojených dětí (35). Další studie prokázala, že směs HMO s LNnT efektivně *in vitro* zvyšuje imunitní odpověď po infekci chřipkovým virem, zatímco při infekci RS virem byla pozorována lepší imunitní reakce spojená s 2'-FL a 3'-SL (36). Ukazuje se, že podávání HMO (2'-FL, LNnT) nezvyšuje riziko alergické reakce u disponovaných dětí s prokázanou alergií na bílkovinu kravského mléka, které byly živeny extenzivním hydrolyzátem na bázi syrovátky, i přesto, že zdrojem pro výrobu HMO je laktóza (37).

Závěr

Při snaze využít aktuální poznatky týkající se složení a funkce MM a díky průmyslově dostupné výrobě se HMO stále častěji stává součástí kojeneckých. Ukazuje se, že péče o střevní mikrobiotu dítěte může ovlivnit nejen jejich imunitní reakce, růst či kvalitu stolice, ale prostřednictvím epigenetických změn se podílet na rozvoji některých chronických zánětlivých onemocnění či poruch chování. Některé skupiny HMO mají již dnes ve studiích prokazatelný benefit při vývoji střevní mikrobioty, u dalších pak budou potřebné studie k ověření jejich potenciálu v prevenci či terapii některých onemocnění jako je alergie, diabetes mellitus typu I či metabolický syndrom.

LITERATURA

1. Cani PD. Gut microbiota - at the intersection of everything? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14(6): 321–322.
2. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G, Quraishi MN, Kinross J, Smidt H, Tuohy KM, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. 2017; 65(2): 330–339.
3. Pascal M, Perez-Gordo M, Caballero T, et al. Microbiome and allergic diseases. *Front Immunol*. 2018;9:1584. Lynch SV, Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med*. 2016; 375(24): 2369–2379.
4. Vatanen T, Franzosa EA, Schwager R, Tripathi S, Arthur TD, Vehik K, Lernmark Å, Hagopian WA, Rewers MJ, She J-X, et al. The human gut microbiome in early-onset type 1 diabetes from the TEDDY study. *Nature*. 2018; 562(7728): 589–594.
5. Stanislawski MA, Dabelea D, Wagner BD, Iszatt N, Dahl C, Sontag MK, Knight R, Lozupone CA, Eggesbø M. Gut microbiota in the first 2 years of life and the association with body mass index at age 12 in a Norwegian birth cohort. *MBio*. 2018; 9: e01751–18.
6. Walker WA. The importance of appropriate initial bacterial colonization of the intestine in newborn, child, and adult health. *Nat Publ*. 2018; Gr. 82(3): 387–395.
7. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, et al. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med*. 2016; 22(10): 1187–1191. doi: 10.1038/nm.4176
8. Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-Garcia C, et al. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P). Probiotics. *World Allergy Organ J*. 2015; 8: 4.
9. Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Clin Allergy Immunol* 2001; 1007: 129–134.
10. Björkstén B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Clin Allergy Immunol* 2001; 108: 516–520.
11. Crittenden RG, Bennett LE. Cow's milk allergy: a complex disorder. *J Am Coll Nutr*. 2005; 24(6 Suppl): 582S–91S. doi: 10.1080/07315724.2005.10719507
12. Jalonen T. Identical intestinal permeability changes in children with different clinical manifestations of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1991; 88(5): 737–742.
13. Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol Int*. 2017; 66(4): 515–522. doi: 10.1016/j.alit.2017.07.010
14. Wopereis H, Oozeer R, Knipping K, et al. The first thousand days - intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014; 25(5): 428–438.
15. Robertson RC, Manges AR, Finlay BB, Prendergast AJ. The human microbiome and child growth – first 1000 days and

- beyond. *Trends Microbiol*. 2019; 27(2): 131–147.
16. Walker RW, Clemente JC, Peter I, et al. The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatr Obes*. 2017; 12(1): 3–17.
 17. de Goffau MC, Lager S, Sovio U, et al. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens. *Nature*. 2019; 572(7769): 329–334.
 18. Wassenaar TM, Panigrahi P. Is a foetus developing in a sterile environment? *Lett Appl Microbiol*. 2014 Dec; 59(6): 572–579. doi: 10.1111/lam.12334. Epub 2014 Oct 27.
 19. Perez-Munoz ME, Arrieta M-C, Ramer-Tait AE, et al. A critical assessment of the „sterile womb“ and „in utero colonization“ hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*. 2017; 5(1): 48.
 20. Le Poul E, Loison C, Struyf S, et al. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *J Biol Chem*. 2003; 278(28): 25481–25489. doi: 10.1074/jbc.M301403200.
 21. Hamer, HM et al. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27(2): 104–119. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x.
 22. Francavilla, R et al. Effect of lactose on gut microbiota and metabolome of infants with cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunology* 2012; 23: 420–427.

**Další literatura u autora
a na www.pediatricpropraxi.cz**