

Vliv oligosacharidů mateřského mléka na střevní mikrobiotu kojců

Ing. Šárka Musilová, Ph.D., prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze

O ochranném účinku mateřského mléka se vědělo již na počátku dvacátého století při porovnání úmrtnosti dětí kojených, která byla sedmkrát nižší než u dětí krmených kojeneckou výživou. V současné době, i přes obrovský pokrok dosažený v dětském lékařství, je stále vyšší riziko výskytu nekrotizující enterokolitidy u dětí krmených umělou výživou než u dětí kojených. Aktuální studie ukazují i rostoucí rozvoj atopie, diabetes mellitus a dětské obezity u dětí na kojenecké výživě. Z tohoto důvodu je neustále mateřské mléko a jeho jednotlivé složky předmětem zkoumání mnoha vědců. Některé mechanismy jeho ochranných účinků nejsou dosud zcela objasněny. Mezi velkou neznámou patří struktura a význam oligosacharidů mateřského mléka. Proč se v mateřském mléce vyskytuje přes 200 různých struktur oligosacharidů a jaké jsou jejich funkce?

Klíčová slova: oligosacharidy mateřského mléka, střevní mikrobiota, prebiotika, antimikrobiální účinky.

Influence of human milk oligosaccharides on the gut microbiota of the newborn

The protective effect of breast milk was known from the beginning of the twentieth century, when mortality in breastfed infants was seven times lower than infants fed infant formula. Currently, despite the enormous progress in pediatric medicine is risk of necrotizing enterocolitis in formula-fed infants still higher than in breastfed infants. Recent studies indicate the development of atopy, diabetes mellitus, and childhood obesity of formula fed infants. Therefore, breast milk and its components are still being studied many scientists. Some mechanisms of its protective effects are not yet fully understood. Among the big unknown is structure and significance of human milk oligosaccharides. Why breast milk contains over 200 different structures of oligosaccharides and what are their functions?

Key words: human milk oligosaccharides, gut microbiota, prebiotics, antimicrobial effects.

Pediatr. praxi 2015; 16(1): 17–19

Úvod

Mateřské mléko obsahuje komplex biologicko-aktivních látek, jako jsou sacharidy (zejména oligosacharidy), aminokyseliny, vitaminy, minerály a další esenciální živiny, které pozitivně působí na vývoj střevní mikrobioty během raného dětství a právě proto je často označováno jako zlatý standart pro výživu kojců. Oligosacharidy mateřského mléka (OMM) tvoří skupinu složitých glykanů, které jsou odolné vůči gastrointestinálnímu trávení, přecházejí do tlustého střeva a stávají se tak pro novorozené děti prvním prebiotikem. Tedy látkou, která selektivně stimuluje růst a aktivitu potenciálně prospěšných bakterií nejčastěji z rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*. V dnešní době je ale známa celá řada dalších účinků a vlastností OMM než jen jejich prebiotický efekt. Podílí se na snížení rizika syndromu náhlého úmrtí dítěte (1), zvýšení inteligence (2), snížení výskytu ušních infekcí, potlačení patogenů způsobujících chřipku a nachlazení, a snížení rizika výskytu astmatu a ekzémů (3). Obecně mají kojené děti zvýšenou odolnost vůči infekčním onemocněním a lepší kognitivní funkce (4). OMM jsou také antiadhezivní antimikrobiální látky, které slouží jako tzv. rozpustné receptory, které zabraňují patogenům uchytit se na povrch sliznice a snižují tak riziko virových, bakteriálních a protozoárních infekcí. Kromě toho jsou také schopné modulovat epitelální a buněčnou imunitní odpověď.

Obsah oligosacharidů v mateřském mléce a jejich variabilita v průběhu laktace a mezi jednotlivci

Hlavním sacharidem mateřského mléka je laktóza, která je přítomna v koncentraci od 40 do 60 g/l. Zbývající sacharidy jsou v mateřském mléce přítomny jako OMM. Jejich obsah se v průběhu laktace mění, nejvyšší koncentraci obsahuje kolostrum 20–25 g/l, poté jejich obsah klesá a pohybuje se v rozmezí 5–20 g/l. Každá žena má unikátní složení oligosacharidů mateřského mléka a v průběhu laktace se toto složení mění (5). Matky předčasně narozených dětí mají ve svém mateřském mléce vyšší koncentraci oligosacharidů než matky, které porodily v očekávaném termínu (6). Množství oligosacharidů v mateřském mléce je též ovlivněno tělesnou hmotností a je prokázáno, že ženy s BMI (body mass index) v rozmezí 14 až 18 mají nižší koncentraci OMM než ženy s BMI v rozmezí 24 až 28 (7).

Složení oligosacharidů mateřského mléka a jejich odlišnost od oligosacharidů kravského mléka

Oligosacharidy mateřského mléka jsou složeny z pěti základních monomerů: kyseliny sialové, *N*-acetylglukosaminu, *L*-fukózy, *D*-glukózy a *D*-galaktózy. Syntéza OMM je řízena environmentálně a geneticky a odehrává se

v mléčné žláze, kde se několik monosacharidů připojí k jádru laktózy za použití glykosyltransferáz. Takzvané krátké řetězce OMM zahrnují trisacharidy jako 3'-sialyllaktóza, 6'-sialyllaktóza, 2'-fukosyllaktóza a 3'-fukosyllaktóza. Složitější komplexy OMM obsahují až 15 monosacharidových jednotek. Bylo zjištěno, že OMM je možné podle jejich složení rozdělit do dvou skupin na neutrální a kyselé. Neutrální OMM neobsahují kyselinu sialovou a tyto frakce oligosacharidů jsou považovány za významné pro rozvoj střevní mikrobioty kojených dětí (8). Složení neutrálních OMM je podobné jako složení galaktooligosacharidů (GOS), ale na rozdíl od GOS obsahují navíc *N*-acetylglukosamin a fukózu. Kyselé OMM obsahují navíc kyselinu sialovou (*N*-acetylneuraminovou) připojenou na galaktózu nebo na zbytek *N*-acetylglukosaminu. OMM je vzhledem k jejich složitosti téměř nemožné uměle syntetizovat. Na rozdíl od jiných složek mateřského mléka, jako jsou mastné kyseliny, složení OMM není závislé na dietě kojící matky, ale je podmíněno geneticky (9). Složení OMM je závislé na sekretorickém a Lewis krevním systému matky, které ovlivňují expresi fukosyltransferázy (10). Na základě těchto systémů je možné rozdělit mateřské mléko do čtyř skupin: Se + Le, Se-Le +, Se + Le +, Se-Le-. Nejsložitější struktury OMM obsahují mléka matek, která mají Se+Le+

a díky tomu jejich mléko obsahuje fukosylované OMM, které je mohou chránit před zánětem mléčné žlázy vyvázáním patogenů (11).

Mateřské mléko obsahuje větší množství prebiotických oligosacharidů než jiná savčí mléka. Obsah těchto oligosacharidů v lidském kolostru je 22–24 g/l a v mateřském mléce je 12–13 g/l, ve srovnání například s mlékem kravským, kde se obsah galaktosyllaktózy pohybuje okolo 40–60 mg/l. OMM se vyznačují mnohem komplikovanější strukturou ve srovnání s oligosacharidy ostatních savčích mlék (12).

Doposud bylo identifikováno více jak 200 různých oligosacharidů s různým stupněm polymerace v rozsahu od 3 do 15 monomerů a u více jak 90 z nich byla charakterizována jejich struktura (13, 14).

Prebiotický efekt oligosacharidů a užití mikrobioty kojenců

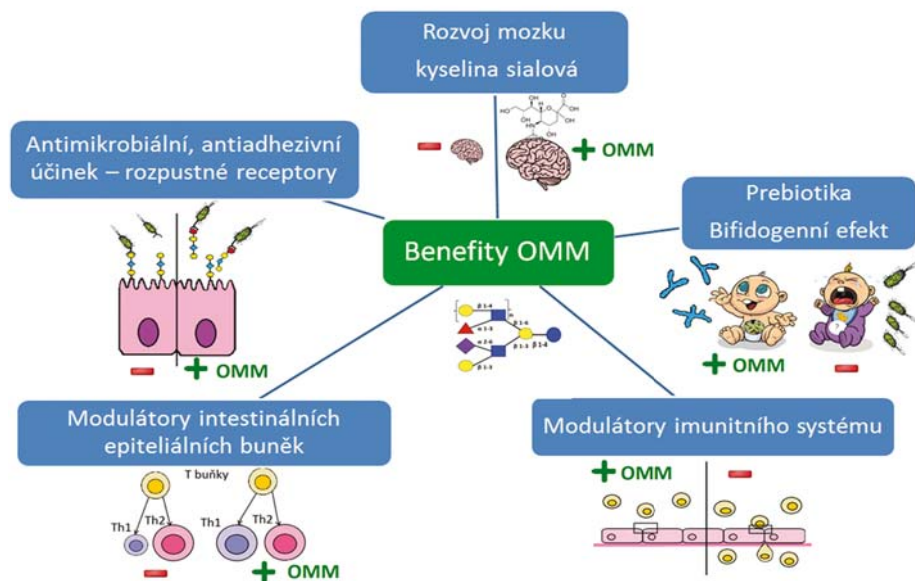
Ačkoliv fyziologické funkce oligosacharidů nejsou zcela definovány, role OMM jako prebiotik je nepostradatelná. Pouze některé druhy bifidobakterií jsou schopny využít OMM, což přispívá k jejich převaze ve střevní mikrobiotě kojenců v prvním roce života. Ve srovnání s komerčně využívanými prebiotiky jako jsou inulin, polydextroza, fruktooligosacharidy (FOS) a galaktooligosacharidy (GOS), působí OMM mnohem specifičtěji a jsou schopny selektivně stimulovat bifidogenní populaci v novorozeneckém střevě. V umělé výživě kojenců je dnes nejčastěji používána směs oligosacharidů rostlinného původu FOS a živočišného původu GOS v poměru 1:9, které nejsou plně selektivní a mohou podporovat růst i některých potenciálně škodlivých bakterií (15). Nedávné studie potvrdily, že degradabilita OMM v tlustém střevě hraje klíčovou roli v utváření bakteriálních populací a osídlení kojeneckého střeva (16). OMM jsou odolné vůči kyselému prostředí žaludku i hydrolytickým enzymům pankreatu, a proto nejsou snadno absorbovány v gastrointestinálním traktu. Pouze jedno procento OMM je vstřebáno v tenkém střevě a je vyloučeno močí, zbytek OMM dosáhne distální části trávicího traktu kojence, kde působí jako prebiotikum.

Existuje řada *in vitro* studií o schopnosti bakterií využívat OMM ke svému růstu zejména rodu *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* a *Bacteroides*.

Antimikrobiální efekt oligosacharidů mateřského mléka

Chemická struktura OMM je podobná struktuře buněčných povrchových glykanů, jako jsou mucin a glykolipidy, které slouží jako receptory

Obrázek 1. Vliv oligosacharidů mateřského mléka (upraveno podle Bode; 2012)



pro vazbu bakterií a virů (12). OMM mají funkci tzv. rozpustných receptorů, které zabraňují uchycení patogenů na epitelální buňky, a tím chrání hostitele proti kolonizaci patogenními mikroorganismy a v rozvoji onemocnění (17). Kyselé OMM slouží tedy jako vazebná místa pro enteropatogeny jako jsou *E. coli*, *Helicobacter pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Campylobacter jejuni* a brání tak k jejich přichycení na receptory slizničního povrchu (18). V prvních dnech a týdnech kojení je tato ochrana před infekcí velmi důležitá, protože nedostatečně kyselé pH žaludku není zatím dostatečnou přirozenou ochranou a imunitní systém dítěte teprve vzniká. Nově byly také popsány extraintestinální antimikrobiální účinky OMM (19). V moči kojenných dětí byly nalezeny frakce OMM, jejichž přítomnost by mohla vysvětlit nižší výskyt zánětů močových cest, způsobených uropatogenní *E. coli* nebo *Streptococcus agalactiae*, v porovnání s dětmi krmenými umělou výživou. Toto tvrzení částečně dokládá i studie provedená na myších, při které byly epitelální buňky močového měchýře v přítomnosti OMM rezistentnější vůči působení těchto patogenů (19).

Vliv oligosacharidů mateřského mléka na rozvoj mozku

Rozkladem OMM v lidském těle se uvolňuje kyselina sialová, která je nezbytná pro vývoj mozku při syntéze gangliosidů a glykoproteinů. Množství této kyseliny je v mateřském mléce zčásti řízeno geneticky, a zčásti je ovlivněno výživou. Dieta obohacená kyselinou sialovou může

tedy významně přispět k větší sialylaci mozkových gangliosidů, glykoproteinů, tělních tekutin a tkání, a může poskytovat výhody kojeným dětem ve srovnání s dětmi krmenými umělou výživou. Nejvyšší množství této kyseliny obsahuje kolostrum (3,72 mmol/l). Toto množství během laktace klesá až na 1,48 mmol/l. OMM hrají tímto i důležitou roli při rozvoji mozku kojených dětí, buněčných interakcích, nervovém růstu, synaptických spojení a tvorbě paměti.

Vliv oligosacharidů mateřského mléka na rozvoj imunitního systému

OMM mají také přímý vliv na imunitní systém kojence a to na funkci selektinu, integrinů a Toll-like receptorů. Dále byl prokázán vliv OMM na produkci cytokinů a aktivaci pupečnickové krve odvozené od T-buněk. U kyselých OMM bylo zjištěno, že mohou ovlivnit zráním lymfocytů a modulovat specifické imunitní odpovědi postnatálního alergenu potlačením Th2 typu reakcí u atopických dětí (20).

Závěr

K založení střevní mikrobioty dochází již v raném dětství a je ovlivněno mnoha faktory, jedním z nich je výživa novorozence. U kojených dětí dochází k rozvoji prospěšných bakterií, jako jsou bifidobakterie, zejména díky bifidogenním účinkům oligosacharidů mateřského mléka. Jejich benefitem není pouze jejich prebiotická funkce, ale také jejich schopnost stimulovat imunitní systém, rozvoj mozku a zlepšení kognitivních funkcí kojence. Regulace syntézy OMM není dostatečně objasněna a proto je třeba vyvinout nové metody detekce OMM a strukturální analýzy, které

by mohly pomoci při pochopení jejich syntézy a možnosti vyvinutí podobných prebiotik se stejně pozitivními účinky. Zatím bohužel nejsou na trhu prebiotika, která by byla schopna všechny funkce OMM napodobit. Současná substituce mateřského mléka kojeneckými výživami obsahujícím prebiotickou směs FOS a GOS, je bohužel zatím jedinou možnou alternativou. Tyto prebiotika, ale nepůsobí dostatečně selektivně a v případě nedostatku bifidogenní populace v trávicím traktu, bohužel hrozí stimulace potenciálně škodlivých bakterií a hnilobných bakterií. Proto je důležité těmto dětem aplikovat i probiotika s obsahem bifidobakterií.

*Publikace vznikla za podpory
GAČR 14-31501P.*

Literatura

1. McVea KLSP, Turner PD, Peppler DK. The role of breastfeeding in sudden infant death syndrome. *Journal of Human Lactation* 2000; 16: 13–20.
2. Kramer MS, Aboud F, Mironova E, et al. Breastfeeding and child cognitive development: new evidence from a large randomized trial. *Archives of general psychiatry* 2008; 65: 578.
3. Reilly JJ, Armstrong J, Dorosty AR, et al. Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. *Bmj* 2005; 330: 1357.
4. Lawrence RM, Pane CA. Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Current problems in pediatric and adolescent health care* 2007; 37: 7.
5. Chaturvedi P, Warren CD, Altaye M, et al. Fucosylated human milk oligosaccharides vary between individuals and over the course of lactation. *Glycobiology* 2001; 11: 365–372.
6. Gabrielli O, Zampini L, Galeazzi T, et al. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation. *Pediatrics* 2011; 128: e1520–e1531.
7. Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012; 22: 1147–1162.
8. Boehm G, Stahl B, Mattila-Sandholm T, et al. Oligosaccharides. *Functional dairy products* 2003: 203–243.
9. Erney R, Hilty M, Pickering L, et al. Human Milk Oligosaccharides. *Bioactive Components of Human Milk*: Springer, 2001: 285–297.
10. Thurl S, Munzert M, Henker J, et al. Variation of human milk oligosaccharides in relation to milk groups and lactational periods. *British Journal of Nutrition* 2010; 104: 1261.
11. Jeurink P, Van Bergenhenegouwen J, Jimenez E, et al. Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial microbes* 2013; 4: 17–30.
12. Kunz C, Rudloff S, Baier W, et al. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Annual review of nutrition* 2000; 20: 699–722.
13. Wu S, Tao N, German JB, et al. Development of an annotated library of neutral human milk oligosaccharides. *Journal of proteome research* 2010; 9: 4138–4151.
14. Wu S, Grimm R, German JB, et al. Annotation and structural analysis of sialylated human milk oligosaccharides. *Journal of proteome research* 2011; 10: 856–868.
15. Bunešová V, Vlková E, Rada V, et al. Growth of infant fecal bacteria on commercial prebiotics. *Folia Microbiologica* 2012; 57: 273–275.
16. Asakuma S, Hatakeyama E, Urashima T, et al. Physiology of consumption of human milk oligosaccharides by infant gut-associated bifidobacteria. *Journal of Biological Chemistry* 2011; 286: 34583–34592.
17. Hong P, Ninonuevo MR, Lee B, et al. Human milk oligosaccharides reduce HIV-1-gp120 binding to dendritic cell-specific ICAM3-grabbing non-integrin (DC-SIGN). *British Journal of Nutrition* 2009; 101: 482–486.
18. Musilová S, Rada V, Vlková E, et al. Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. *Beneficial microbes* 2014; 5: 273–283.
19. Lin A, Autran C, Espanola S, et al. Human milk oligosaccharides protect bladder epithelial cells against uropathogenic *E. coli* and *Streptococcus agalactiae* infections (38.5). *The FASEB Journal* 2014; 28: 38–35.
20. Eiwegger T, Stahl B, Haidl P, et al. Prebiotic oligosaccharides: in vitro evidence for gastrointestinal epithelial transfer and immunomodulatory properties. *Pediatric Allergy and Immunology* 2010; 21: 1179–1188.

*Článek doručen redakci: 5. 1. 2015
Článek přijat k publikaci: 13. 1. 2015*

Ing. Šárka Musilová, Ph.D.

*Fakulta agrobiologie potravinových
a přírodních zdrojů
Česká zemědělská univerzita v Praze
Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka
musilovas@af.czu.cz*

