

„HMO – kluczowy składnik wzmacniający odporność niemowląt karmionych piersią!”

Jan Mazela

Katedra Neonatologii, Klinika Zakażeń Noworodka
UMP

Pracownia Mikrobioty i Żywienia UMP

- Co to jest oligosacharyd mleka?
 - Historia
 - Skład mleka
- Funkcje i mechanizmy
- Badania kliniczne
- Badania przedkliniczne
- Przyszłość

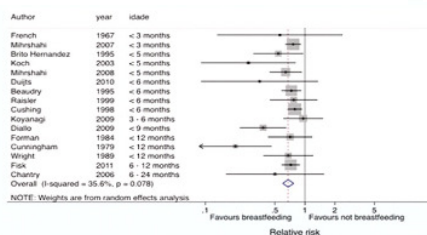
Konflikt interesu

- Grant: Nestle, GENC, Nutricia
- Konsultant: Nestle, Nutricia, HiPP, Chiesi, Abbvie, Windtree Inc.

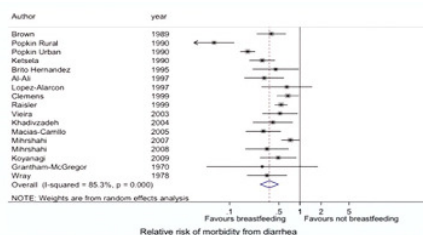
Mleko kobiece

- Idealne i optymalne żywienie noworodków i niemowląt
- Bдания wykazały jednoznacznie:
 - Zmniejszenie częstości luźnych stolcy i zakażeń dolnych dróg oddechowych
 - Potencjalnie zmniejszenie częstości otyłości i cukrzycy

Występowanie zakażeń dolnych dróg oddechowych; RR i 95% CI



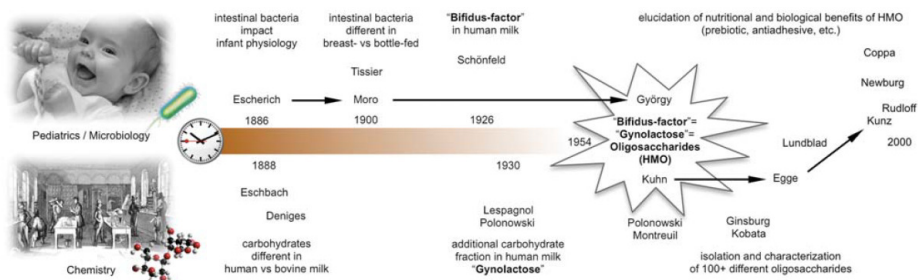
Występowanie rozwołnień; RR i 95% CI



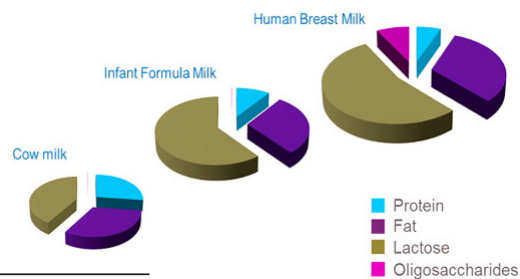
Victora i wsp. 2016 Lancet 387:475

Historia

- Umieralność niemowląt 30% w XIXw !!!!
- Równoległe badania chemików i pediatrów



Skład mleka



	Human	Bovine
Protein (g/L)	8 ^a	32 ^a
Fat (g/L)	41 ^a	37 ^a
Lactose (g/L)	70 ^a	48 ^a
Oligosaccharides (g/L)	5–15 ^b	0.05 ^c
Number of identified oligosaccharides	100+ ^{b,d}	~40 ^c
%fucosylated	50–80% ^{b,d,f}	~1% ^c
%sialylated	10–20% ^{b,d}	~70% ^c

^aData from Hale and Hartmann (2007).

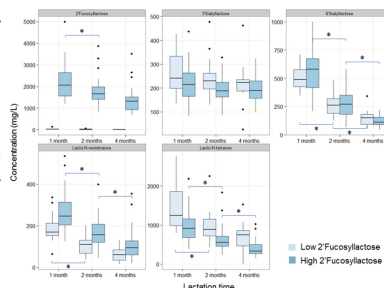
^bData compiled from the following references: Coppa et al. (1999), Kunz et al. (1999), Newburg et al. (2000), Chaturvedi, Warren, Altaye, et al. (2001), Davidson et al. (2004), Bao et al. (2007) and Gabrielli et al. (2011).

^cData from Gopal and Gill (2000).

^dData compiled from the following references Ninonuevo et al. (2006) and Wu et al. (2010; 2011) and reviewed in Kobata (2010).

^eData from Tao et al. (2008) and Tao et al. (2009).

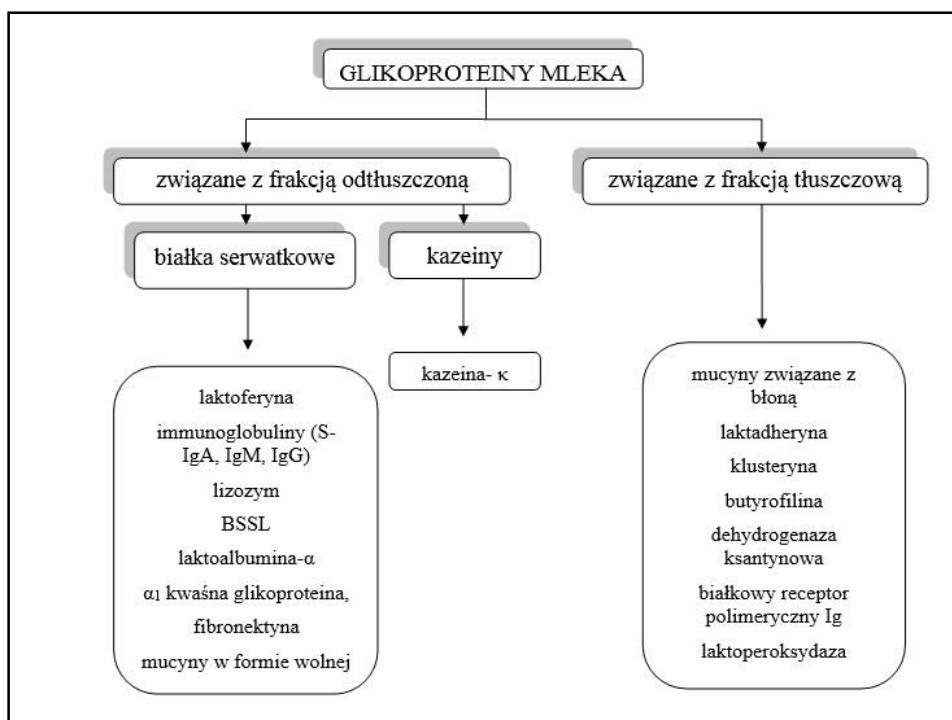
^fDepending on the woman's Se/Le blood group status.



Sprenger i wsp. PLoS ONE 2017;12(2)

Skład mleka

- Wyjątkowe właściwości mleka ludzkiego wiążą się także z obecnością znacznej ilości biologicznie aktywnych glikokoniugatów, do których zalicza się:
 - wolne oligosacharydy,
 - glikoproteiny (m.in. wydzielniczą IgA, laktoferynę),
 - glikolipidy
 - glikozaminoglikany

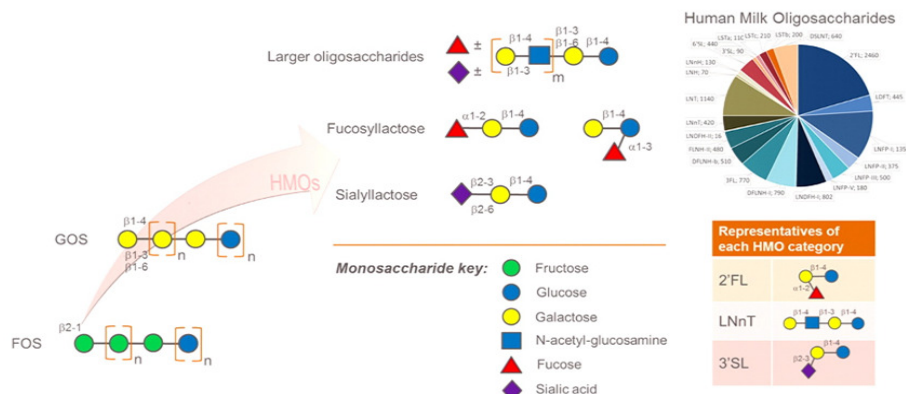


Oligosacharydy mleka kobiecego HMO

- Oligosacharydy – krótkie łańcuchy węglowodanowe (kilkucukry):
 - Disacharydy: sacharoza, maltoza, laktoza, laktuloza
 - Wielocukry: glukoza, galaktoza, fruktoza, mannoza
 - Homooligosacharydy
 - Heterooligosacharydy
- Skład - 5 monosacharydowych bloków:
 - Galaktoza, glukoza, N-acetyloglukozamina, fukoza, kwas sialowy
- W pokarmie kobiecym do 10-15g/L w sianie do 30g/L

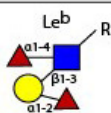
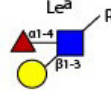
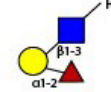
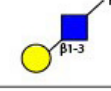
Od FOS do HMO

- FOS i GOS to tylko oligosacharydy pochodzenia roślinnego, brak funkcji regulacyjnej jak HMO
- Glikokozyllacja: potranslacyjna modyfikacja białek
 - Fukozyllacja, sialylacja



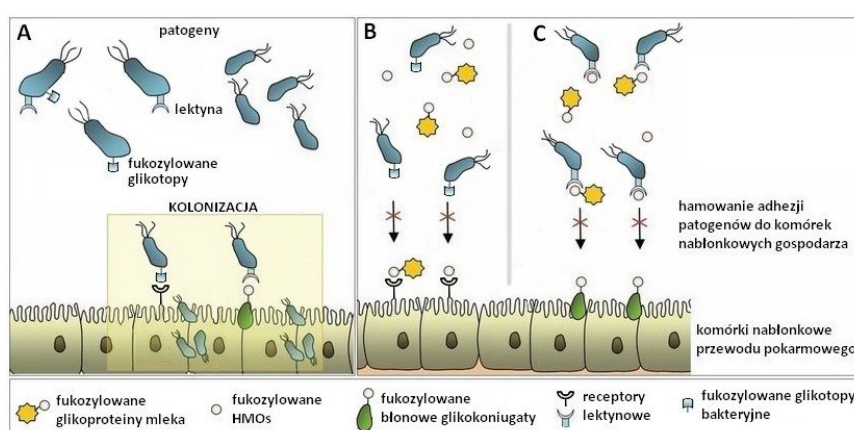
Glikotypy HMO

- Struktura glikotopów HMOs oraz glikanów glikoprotein jest zależna od ekspresji genu *FUT2*, kodującego α 1-2-fukozylotransferazę oraz genu *FUT3*, kodującego α 1-3/4-fukozylotransferazę. Na podstawie obecności i/lub braku produktów ekspresji genów, wyróżnia się 4 fenotypy: *Se*⁺/*Le*⁺, *Se*⁺/*Le*⁻, *Se*⁻/*Le*⁺, *Se*⁻/*Le*⁻.

Genotyp		Fenotyp	Glikotop
<i>FUT2</i>	<i>FUT3</i>		
+	+	<i>Se</i> ⁺ / <i>Le</i> ⁺	
-	+	<i>Se</i> ⁻ / <i>Le</i> ⁺	
+	-	<i>Se</i> ⁺ / <i>Le</i> ⁻	
-	-	<i>Se</i> ⁻ / <i>Le</i> ⁻	

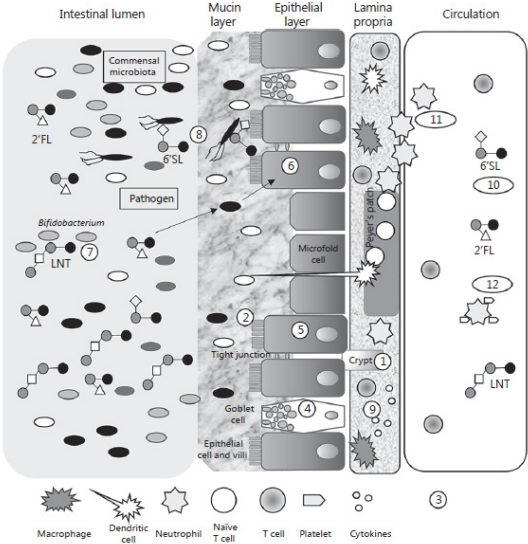
 Galaktoza (Gal)
  Fukoza (Fuc)
  N-acetyloglukozamina (GlcNAc)

Mechanizm antybakteryjny



Lis-Kuberka i wsp. Postepy Hig Med. Dosw 2015;69:118

Mechanizm immunomodulujący



Donovan i wsp. Ann Nutr Metab 2016;69(2):42

Fukozylowane glikoniugaty

Glikoniugat/ glikotop, jeśli znany	Mikroorganizm	Pismienictwo
WOLNE OLIGOSACHARYDY		
2'-Fukozylolaktoza	<i>Salmonella enterica</i> serowar Fyris, <i>Campylobacter jejuni</i> enteropatogenne <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[116]
3-Fukozylolaktoza	enteropatogenne <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>	[116]
Lakto-N-dwufukoheksasacharyd I zawierająca antygen Lewis ^x (α1-2- oraz α1-4-Fuc)	Norowirus	[79]
α1-2-fukozylowane HMOs	<i>C. jejuni</i> , <i>Kalciwirus</i> , ciepłostabilna toksyna <i>E. coli</i>	[25,34,79]
Fukozylowane HMOs	<i>Vibrio cholerae</i>	[80,97]
GLIKOPROTEINY		
S-IgA fukozylowane glikany	enteropatogenne <i>E. coli</i>	[26]
S-IgA α1-2 fukozylowane glikany	<i>Helicobacter pylori</i>	[39,95]
Laktoferyna fukozylowane glikany	<i>Salmonella enterica</i> serowar Typhimurium, Heidelberg	[8]
Mucyna fukozylowane glikany	Norowirus	[54]

Lis-Kuberka i wsp. Postepy Hig Med. Dosw 2015;69:118

Oligosacharydy mleka a rozwój niemowlęcia

HMO wpływają na wzrost niemowląt w 6 mies życia

Associations between human milk oligosaccharides and infant body composition in the first 6 mo of life^{1,2}

Tanya L Alderete,¹ Chloe Austran,⁴ Benjamin E Brekke,³ Rob Knight,^{4,5} Lars Bode,⁴ Michael I Goran,^{3*} and David A Fields⁶
Am J Clin Nutr doi: 10.3945/ajcn.115.115451.

Hypothesis:

Profil HMO różny z wiekiem i różny u matek.
 Czy ma wpływ na wzrost dziecka?

Conclusion:

HMO mogą wpływać na wzrost niemowlęcia w 6 mies życia

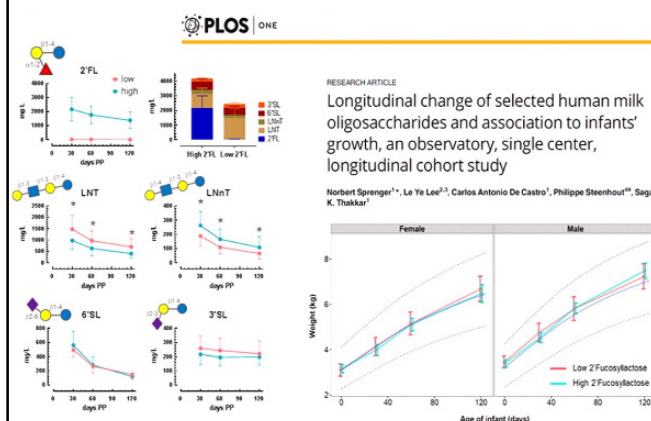
Alderete et al. (2015) AJCN

Poziomy 2'Fukozyllaktozy, Lakto-N-fukopentasacharydu, Lakto-N-tetrasacharydu w mleku kobiecym (n=25)



Słabsze przyrosty masy ciała, masy tłuszczowej w 6. mies życia przy suplementacji LNFP-I, LNT, ale wyższe przyrosty masy tłuszczowej za pomocą DSLNT, LNFP II

HMO nie wpływają na wzrost niemowląt



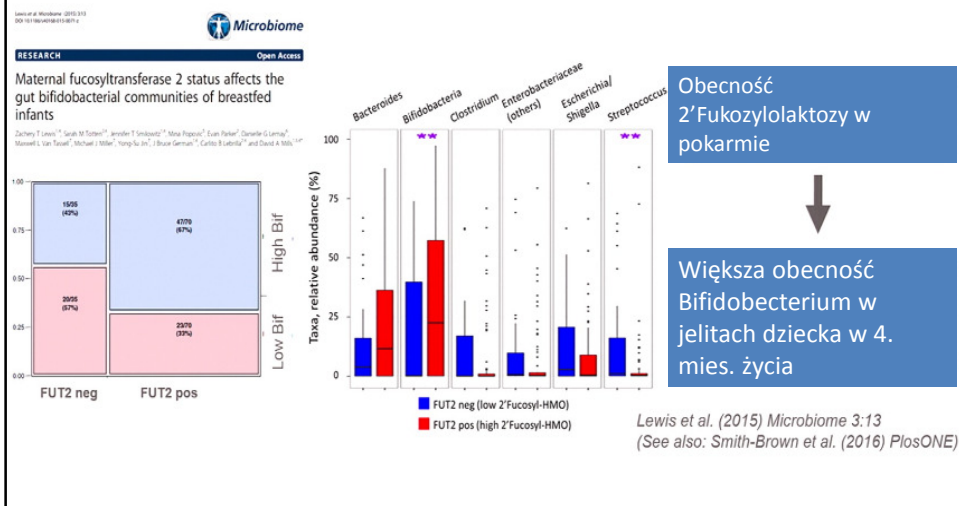
Sprenger et al. (2017) PlosONE

Obecność Fukozyllaktozy (n=34) lub jej brak (n=16) w mleku kobiecym

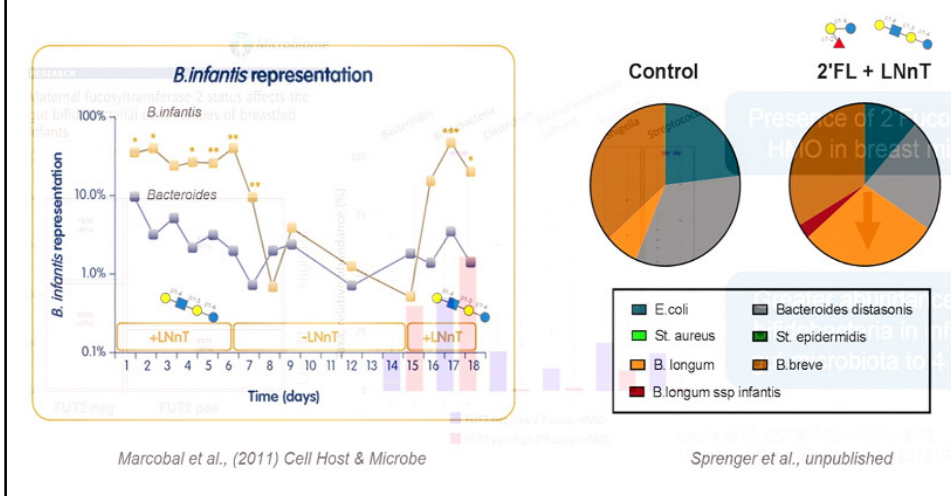


Podobne przyrosty masy ciała i długości w 4 mies. życia

HMO związane z Bifidobacteria przeważają u niemowląt karmionych piersią



Wspieranie Bifidobacteria u gnotobiotycznej myszy



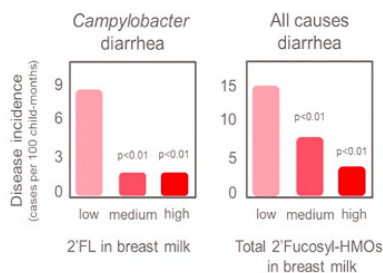
HMO ograniczają infekcje układu pokarmowego

The JOURNAL
of PEDIATRICS

J. Pediatr. 2004 Sep;145(3):297-303.

Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants.

Morrow AL¹, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Jiano X, Guerrero ML, Meinzen-Derr JK, Farías T, Chaturvedi P, Pickering LK, Newburg DS.



Morrow et al. (2004) J of Pediatrics
Newburg et al. (2004) Glycobiology

Obecność
2'Fukozyllaktozy w
mleku



Zmniejszenie ryzyka
luźnych stolcy w 9
mies. życia

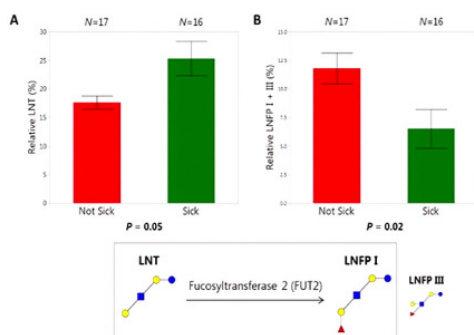
Poszczególne HMO zmniejszają ryzyko zachorowania

OPEN

Growth and Morbidity of Gambian Infants are Influenced by Maternal Milk Oligosaccharides and Infant Gut Microbiota

Jasmine C. C. Davis^{1,2}, Zachary T. Lewis^{3,4}, Sridevi Krishnan⁵, Robin M. Bernstein^{6,7}, Sophie E. Moore^{8,9}, Andrew M. Prentice⁹, David A. Mills^{1,5,11}, Carlito B. Lebrilla^{1,2} & Angela M. Zivkovic^{2,10}

Received: 15 August 2016
Accepted: 06 December 2016
Published: 12 January 2017



Davis et al. (2017) Scientific Reports 7:40466

Lakto-N-fukopentasacharyd I



Mniejsza
zachorowalność w 4
mies. na infekcje p.
pokarmowego

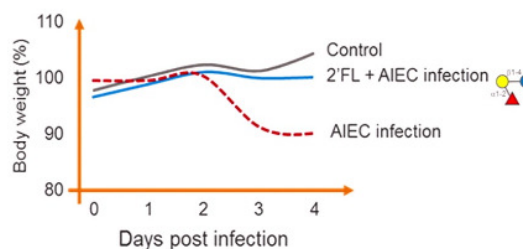
HMO chronią przed infekcjami przewodu pokarmowego – modele zwierzęce

Campylobacter jejuni

Days after Infection	2'FL in Milk (Fut1 TG)			Control
	Campylobacter inoculum cfu/mL			
	1.00E+04	1.00E+08	1.00E+09	1.00E+08
1	40	30	90	100
3	40	60	50	90
5	10	40	20	70
7	0	0	0	70
9	0	10	10	67
11	0	0	0	70
13	0	0	0	70
15	0	0	0	90

Ruiz-Palacios et al., (2003) JBC

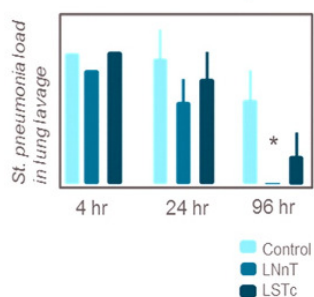
Aggregating Invasive *E. coli*



He et al., (2016) Gut

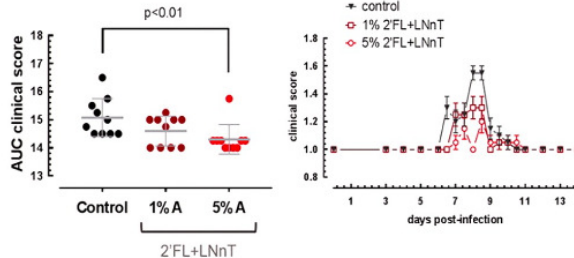
HMO chronią przed infekcjami dróg oddechowych – model zwierzęcy

St. pneumoniae



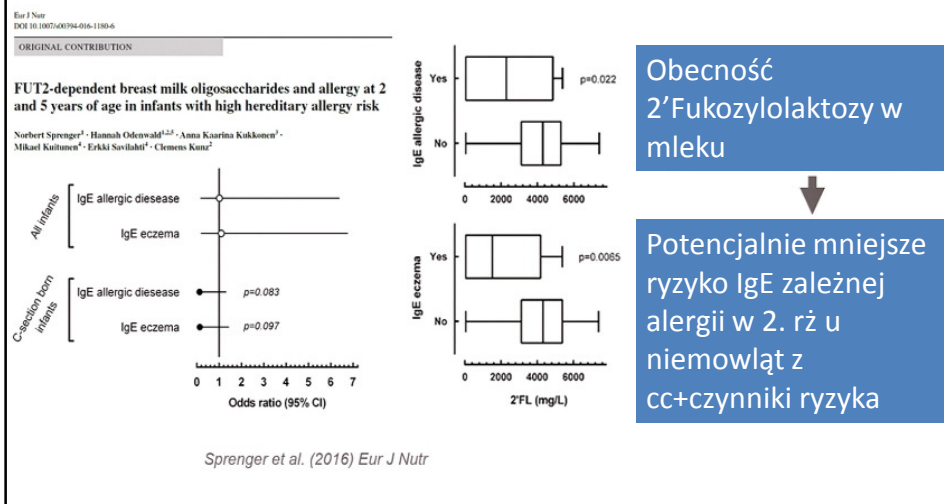
Idänpään-Heikkilä et al. 1997

Influenza virus



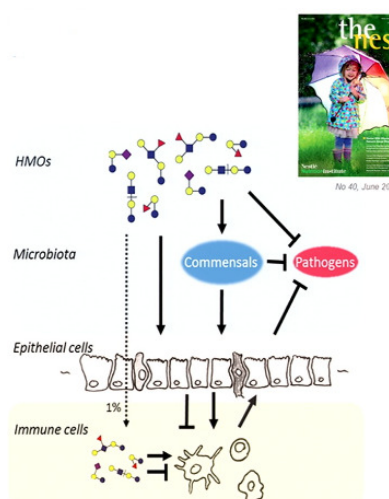
Sprenger et al., unpublished

Specyficzne HMO w IgE zależnej alergii i atopowym zapaleniu skóry



Podsumowanie roli HMO

- 2-fukozylo-HMO działają ochronnie:
 - Odżywiają Bifidobacteria
 - Wychwytyją patogeny
 - Wzmacniają barierę jelitową i modulują układ immunologiczny
- Niejasny wpływ na rozwój somatyczny

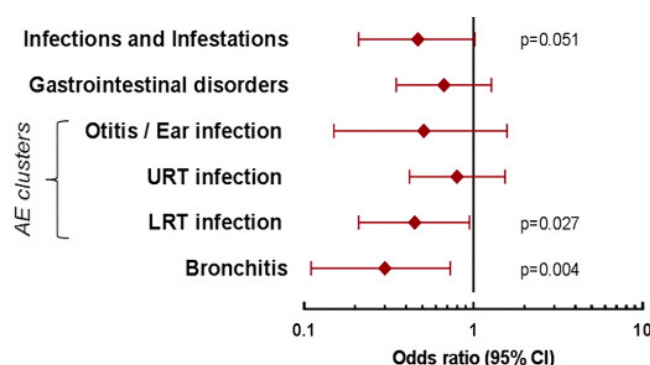


Wpływ preparatu mlekozastępczego wzbogaconego HMO na wzrost i zachorowalność

- Prospektywne badanie randomizowane:
 - Produkt: 2'FL 1g/L +LNnT 0.5g/L preparat początkowy
 - Kontrola: preparat początkowy
 - Populacja: niemowlęta 0-6 miesięcy, potem preparat bez suplementacji HMO do 12 mies. życia
- Punkt końcowy: rozwój somatyczny w 4 mies.
- Drugorzędowe:
 - Tolerancja pokarmu
 - Zachorowalność
 - Mikrobiota

Puccio et al. (2017) JPGN (DOI: 10.1097/MPG.0000000000001520)
 www.ClinicalTrials.gov (NCT01715246). Study sponsor: Nestlé Nutrition

Powikłania zgłaszane przez rodziców do 12 mies. życia

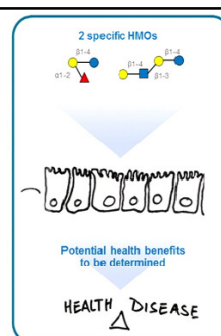


Preparat mlekozastępczy z 2'FL+LNnT => redukcja infekcji w 1. rż, zwłaszcza dolnych dróg oddechowych

Puccio et al. (2017) JPGN (DOI: 10.1097/MPG.0000000000001520)
 www.ClinicalTrials.gov (NCT01715246). Study sponsor: Nestlé Nutrition

Wnioski

- Syntetyczna 2 fukozylolaktoza (2'FL) i kombinacja 2'FL + laktozo-N-neo-tetrasacharyd (LnNT) są bezpieczne i dobrze tolerowane
- W badaniach klinicznych wykazano ograniczenie infekcji dróg oddechowych i przewodu pokarmowego
- Wykazano pozytywny wpływ na normalizację profilu mikrobioty jelit



PROGNOZA DŁUGOTERMINOWA, MIĘDZYDROJE

Dzień	Prognoza	Wiatr	Opady	Ciśnienie	Słońce
Sroda 06.06	23°C Przeważnie słonecznie 13°C	16 km/h ESE Max 31 km/h	Zachm. 15% Deszcz: 0mm	+ 1020,9 hPa	+ 4:34 + 21:29 Uv 7/10
Czwartek 07.06	23°C Przeważnie słonecznie 15°C	14 km/h SE Max 24 km/h	Zachm. 25% Deszcz: 0mm	1019,1 hPa	+ 4:34 + 21:30 Uv 7/10
Piątek 08.06	25°C Przeważnie słonecznie 16°C	14 km/h ENE Max 26 km/h	Zachm. 53% Deszcz: 0mm	+ 1015,6 hPa	+ 4:33 + 21:31 Uv 7/10