

PROBIOTYKI STOSOWANE OD PIERWSZYCH DNI ŻYCIA W KSZTAŁTOWANIU MIKROBIOMU OSI JELITOWO-MÓZGOWEJ

PROBIOTICS ADMINISTERED WITHIN THE FIRST DAYS OF LIFE INFLUENCE THE STRUCTURE OF THE GUT-BRAIN-AXIS MICROBIOME

Ryszard Lauterbach¹

STRESZCZENIE

Drobnoustroje tworzące mikrobiotę jelit odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu zdrowia człowieka. Są niezbędne nie tylko dla prawidłowego funkcjonowania przewodu pokarmowego, ale również modulują pracę układu immunologicznego, procesy metaboliczne, a nawet oddziałują na centralny system nerwowy (oś jelitowo-mózgowa). Czynniki, takie jak sposób zakończenia ciąży, wiek ciążowy, opóźnienia wzrastania płodu, rodzaj przyjmowanego pokarmu determinują proces wczesnej kolonizacji przewodu pokarmowego. Długotrwała hospitalizacja w oddziale intensywnej terapii negatywnie wpływa na kształtowanie się mikrobioty i dalsze zdrowie dziecka. Ostatnie badania nad zastosowaniem probiotyków wskazują na możliwości działania profilaktycznego i terapeutycznego w dysbiozie przewodu pokarmowego.

SŁOWA KLUCZOWE: mikrobiota, noworodek, wczesna kolonizacja, dysbioza, probiotyki, martwicze zapalenie jelit

ABSTRACT

The gut microbiota plays pivotal role in maintenance of human health. Microbial population influence not only the proper function of intestines and gut barrier, but also modulates immune system, metabolic processes and even may interact with the central nervous system through gut- brain axis. Numerous factors such as a mode of delivery, gestational age, fetal growth retardation, diet impacts early gut colonization. A prolonged NICU hospitalization may negatively contribute to microbiota establishment and composition. Recent research focus on probiotics use in prophylaxis and therapy of gut dysbiosis in the newborn.

KEY WORDS: microbiome, newborn, early colonization, dysbiosis, NEC

WSTĘP

Do niedawna nie docenialiśmy zasadniczej, wspólnej roli dwóch najbardziej złożonych układów w organizmie, które decydują o naszym stanie zdrowia, czyli układu pokarmowego oraz układu nerwowego – jelit i mózgu. Połączenie między umysłem a ciałem to biologiczny fakt oraz ważne ogniwo prowadzące do zrozumienia, czym jest zdrowie całego organizmu. Współczesne badania wskazują, że jelita, pozostające w ścisłej interakcji z zamieszkującymi je drobnoustrojami, mogą oddziaływać na nasze emocje, wrażliwość na ból oraz interakcje społeczne, a nawet kierować wieloma z naszych decyzji. Tak zwana „intuicja trzewna”, czyli złożona komunikacja pomiędzy jelitami a mózgiem odgrywa rolę w sytuacjach, gdy podejmujemy jedno z najważniejszych decyzji w życiu. Funkcjonowanie przewodu pokarmowego wpływa na nastrój oraz na kształtowanie wzorców poznawczych i behawioralnych. Możliwe jest to dzięki istnieniu osi jelito-mózg i sygnalizacji neuronalnej (która przebiega dwukierunkowo drogą nerwu błędnego) oraz neurohormonalnej. Ta ostatnia zachodzi przez barierę krew-płyn mózgowo-rdzeniowy, na przykład poprzez

produkcję i uwalnianie w jelitach, takich mediatorów jak serotonina czy histamina [1]. Zmiany w funkcjonowaniu osi jelito-mózg, będące konsekwencją nieprawidłowej kolonizacji przewodu pokarmowego mogą skutkować między innymi zaburzeniami depresyjnymi czy zespołem jelita drażliwego [2]. Zaburzenia mikrobioty jelitowej związane są także ze zwiększonym ryzykiem autyzmu bądź ADHD. U dzieci autystycznych, skład mikrobioty jelitowej znacznie różni się od tego stwierdzanego u dzieci zdrowych. Co więcej, tacy pacjenci mają często dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego [3].

CO TO JEST MIKROBIOTA?

Zainteresowanie tym zagadnieniem można w dużym stopniu przypisać znacznemu przyrostowi wiedzy na temat bakterii, pierwotniaków, grzybów czy wirusów bytujących w naszych jelitach, które zbiorczo określa się mianem mikrobioty. Liczne czynniki wpływające na zaburzenia procesu kolonizacji bakteriami, takie jak stan odżywienia, choroby matki i leki przez nią zażywane, konieczność wspomagania porodu, oddzielenie matki od dziecka po urodzeniu

¹ Oddział Kliniczny Neonatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Adres do korespondencji: Ryszard Lauterbach, Oddział Kliniczny Neonatologii Szpitala Uniwersyteckiego, ul. Mikołaja Kopernika 36, 31-501 Kraków, tel. 12 400 10 00, e-mail: ryszard@lauterbach.pl

czy zaniechanie karmienia piersią mogą negatywnie wpływać na różnorodność mikrobioty i przyczyniać się do dysbiozy przewodu pokarmowego. Mikrobiota oddziałuje na znajdujące się w jelitach liczne komórki wydzielnicze, które łącznie tworzą skupisko większe od pozostałych gruczołów wydzielania wewnętrznego, gonad, tarczycy, przysadki i nadnerczy razem wziętych. Co więcej, podobne relacje mikrobioty dotyczą także zgromadzonych w jelitach komórek odpornościowych, których w ścianach jelit jest więcej niż krąży ich we krwi i pozostaje w szpiku kostnym. Zlokalizowany w ścianach jelit system obrony immunologicznej potrafi zidentyfikować i zniszczyć, wśród trylionów pożytecznych drobnoustrojów, relatywnie niewielką ilość niebezpiecznych bakterii, które mogą przypadkiem trafić do naszych jelit.

Przyjmuje się, że ostateczna wersja mikrobiomu człowieka powstaje w pierwszych dwóch latach życia. Korzyści czerpane z obecności w jelitach mikrobioty decydują o naszym zdrowiu. Z kolei zaburzenia czy modyfikacje mikrobiomu jelitowego kojarzą się z długą listą chorób, dotyczących nie tylko przewodu pokarmowego, ale także między innymi funkcji ośrodkowego układu nerwowego, przy czym należy podkreślić, że lista ta wypełnia się coraz to nowymi patologiami, do których powstania zaburzenia mikrobioty przyczyniają się w sposób bezpośredni. Jedną z takich patologii jest przedwczesny poród, będący częstą przyczyną zaburzeń zdrowotnych występujących nie tylko we wczesnym okresie życia, ale także mających wpływ na aktywność w dorosłym życiu.

Do niedawna sądzono, że w okresie rozwoju wewnątrzmacicznego, przewód pokarmowy płodu wypełniony jest sterylnym płynem owodniowym, którego objętość w trzecim trymestrze ciąży połykana przez dziecko w ciągu doby przekracza 400 ml. Zarówno składniki płynu owodniowego, takie jak czynniki wzrostowe, aminokwasy czy elektrolity i znaczna jego objętość stymulują wzrost i dojrzewanie enterocytów, istotnych składowych immunologicznych oraz struktur neuroregulacyjnych przewodu pokarmowego. Wcześniej powszechnie uważano, że zasiedlanie błon śluzowych przewodu pokarmowego bakteriami następuje dopiero po urodzeniu. Obecnie udowodniono, że w łożysku, jelitach i smółce płodu znajdują się już mikroorganizmy. Dalsza kolonizacja przez bakterie odbywa się w czasie przechodzenia przez kanał rodny w trakcie porodu, a następnie w chwili kontaktu z otoczeniem matki oraz rozpoczęciem karmienia piersią [4].

Enterocyty znajdujące się w jelicie cienkim u płodu w okresie pomiędzy 18-21 tygodniem ciąży wykazują już obecność receptorów TLR-2 oraz TLR-4. Pobudzenie receptorów TLR-4 poprzez działanie lipopolisacharydowej endotoksyny (LPS) prowadzi do wzrostu stężenia czynnika jądrowego NF- κ B i zwiększenia syntezy między innymi cytokin prozapalnych. W okresie bezpośrednio po urodzeniu, odpowiedź komórek jelitowych na działanie LPS jest osłabiona z powodu zmniejszonej ekspresji białka

IRAK1 (IL-1-receptor-associated kinase 1), które jest ważnym pośrednikiem w reakcji zwiększenia stężenia czynnika jądrowego, stymulowanego aktywacją receptora TLR-4. Wydaje się, iż w ten sposób organizm noworodka jest chroniony we wczesnym okresie kolonizacji bakteriami przed nadmierną odpowiedzią zapalną, mogącą prowadzić do groźnych następstw w postaci, np. martwiczego zapalenia jelit. Ponadto, należy pamiętać, iż w pokarmie matki znajduje się rozpuszczalna postać receptora TLR-2 (s-TLR-2), która hamuje odpowiedź zapalną wyzwaną poprzez stymulację tych receptorów. To ułatwia kolonizację przewodu pokarmowego bakteriami Gram(+) z rodzaju *Bifidobacterii*, stanowiącymi prawidłową florę przewodu pokarmowego noworodka. Lokalizacja wielu innych receptorów, także wewnątrz enterocytów, powoduje, iż tylko patogenne, inwazyjne bakterie mogą przenikać do komórek i stymulować ich aktywację, czego nie czynią komensale. Z kolei, niektóre probiotyki, takie jak na przykład *Saccharomyces boulardii* posiadają zdolność inaktywacji komórek TH1 poprzez wychwytywanie ich w węzłach chłonnych krezkowych, i w ten sposób zapobiegają powstawaniu nacieków zapalnych w ścianie jelit [5].

Mechanizmy te są wystarczające do zapobiegania nadmiernej odpowiedzi zapalnej powstającej w enterocytach w sytuacji, gdy kolonizacja bakteriami przewodu pokarmowego zachodzi w środowisku, w którym noworodek przebywa razem z matką i jest karmiony piersią od pierwszych chwil życia. Jednakże, gdy dziecko po urodzeniu wymaga leczenia w oddziale intensywnej terapii, przewód pokarmowy kolonizowany jest zwykle przez szpitalne szczepy bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* czy *Staphylococcus* koagulazo-ujemny. Szczególnie często dotyczy to noworodków urodzonych z masą ciała poniżej 1000 g, u których w przewodzie pokarmowym przeważa flora bakteryjna uważana za patogenną a szczepy *Bifidobacterium* spp. i *Lactobacillus* spp. stanowią w pierwszym miesiącu życia zazwyczaj mniej niż 5% flory bakteryjnej przewodu pokarmowego. Ponadto, u tych noworodków istnieją najczęściej przeciwwskazania do karmienia doustnego, co w sposób istotny zaburza funkcje przewodu pokarmowego i ułatwia namnażanie się patogennych szczepów enterobakterii. Znaczna niedojrzałość przewodu pokarmowego u tych wcześniaków, jest istotną przyczyną zarówno translokacji toksyn bakteryjnych, uwalnianych przez enterobakterie, a także wydzielania do krążenia cytokin prozapalnych, powstających w sposób kaskadowy w enterocytach pod wpływem działania LPS produkowanej przez bakterie Gram(-). Przyczynia się to zarówno do powstania uogólnionej odpowiedzi zapalnej, pogarszającej stan kliniczny niedojrzałego noworodka, a także może być przyczyną wystąpienia martwiczego zapalenia jelit (NEC - necrotizing enterocolitis), które często u wcześniaków z krańcowo małą urodzeniową masą ciała (poniżej 1000 g) powikłane jest perforacją przewodu pokarmowego i w znacznym odsetku może prowadzić do zgonu. W chwili obecnej

patogeneza NEC nie jest dokładnie wyjaśniona, przy czym za najważniejsze okoliczności prowadzące do wystąpienia schorzenia uważa się nadmierną odpowiedź zapalną w jelitach, przenoszącą się wcześniej opisanymi drogami na teren ośrodkowego układu nerwowego. NEC jest zatem przykładem zaburzeń osi jelitowo-mózgowej, spowodowanych istnieniem nieprawidłowej flory bakteryjnej kolonizującej przewód pokarmowy.

CO TO JEST DYSBIOZA?

Liczne czynniki wpływające na zaburzenia procesu kolonizacji bakteriami, takie jak stan odżywienia i choroby matki, leki przez nią zażywane, konieczność wspomagania porodu, oddzielenie matki od dziecka po urodzeniu czy zaniechanie karmienia piersią mogą negatywnie wpływać na różnorodność mikrobioty i przyczyniać się do dysbiozy przewodu pokarmowego. Dysbioza to stan zaburzenia mikrobioty, który może być odpowiedzialny za wiele schorzeń zarówno w pierwszych tygodniach po urodzeniu jak i późniejszym okresie życia człowieka. U noworodków i niemowląt dysbioza może przejawiać się częstszym występowaniem infekcji dotyczącej całego organizmu czyli sepsy, kolkami, trudnościami w tolerancji żywienia enteralnego. Stan ten może także powodować wystąpienie chorób autoimmunologicznych, alergii pokarmowej, atopowego zapalenia skóry czy astmy. Dysbiozę wymienia się jako jeden z czynników predysponujących do insulino-oporności oraz otyłości. Coraz liczniejsze publikacje na temat funkcjonowania osi jelito-mózg opisują także zależności pomiędzy nieprawidłową florą bakteryjną a występowaniem depresji.

Podaż probiotyków, czyli niepatogennych mikroorganizmów modulujących odpowiedź immunologiczną, jest jedną z metod profilaktyki i leczenia stanów związanych z dysbiozą przewodu pokarmowego. Mechanizm działania probiotyków polega między innymi na blokowaniu miejsc wiążących bakterie na śluzówce przewodu pokarmowego i tym sposobem hamowaniu kolonizacji szczepami patogennymi. Probiotyki działają również bakteriostatycznie na inne szczepy bakteryjne poprzez produkcję bakteriocyn, reuteryn czy nadtlenu wodoru oraz jonów wodorowych. Probiotyki mogą także modyfikować ekspresję genów enterocytów, regulując w ten sposób zarówno miejscową, jak i uogólnioną reakcję zapalną. Obecność bakterii jest niezbędną dla prawidłowego funkcjonowania przewodu pokarmowego. Zwierzęta, których przewód pokarmowy nie jest skolonizowany bakteriami wymagają do utrzymania prawidłowego wzrostu większych o 30% dostaw energii i wykazują równocześnie nieprawidłowości w budowie nabłonka jelitowego. Mają także zaburzone zjawisko tolerancji na antygeny pokarmowe i co jest szczególnie istotne, uszkodzony proces angiogenezy w jelitach.

Mikrobiota jelitowa zwiększa biodostępność produktów odżywczych przydatnych dla organizmu ludzkiego, w tym kwasów tłuszczowych powstających

z oligosacharydów. Bakterie syntetyzują witaminę B₁₂ i K, metabolizują kwasy żółciowe oraz substancje karcynogenne. Ponadto, mikroorganizmy stymulują enterocyty do produkcji mucyny, która chroni nabłonek przed przyleganiem patogenów i działaniem toksyn.

W jelitach udało się zidentyfikować ponad 1000 rodzajów bakterii. Zaliczają się do nich organizmy komensalne oraz tymczasowe, które współistnieją w stanie symbiozy i równowagi. Należą one do kilku głównych typów: *Bacterioides*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* i *Actinobacteria*. Skład gatunkowy różni się u poszczególnych badanych i jest charakterystyczny dla danego osobnika. Genotyp gospodarza odgrywa istotną rolę w kształtowaniu mikrobioty, chociaż u bliźniąt jednojajowych różnice w gatunkach mikroflory mogą sięgać nawet do 80% [6, 7]. Skład poszczególnych gatunków bakterii zmienia się dynamicznie u każdego osobnika w czasie, pod wpływem czynników środowiskowych. Jednakże po wahaniami spowodowanych na przykład leczeniem antybiotykami empirycznymi, takimi jak ampicylina i gentamycyna, zwykle po 3-4 tygodniach od chwili zakończenia terapii, sytuacja wraca do proporcji stwierdzanych przed okresem leczenia. Według niektórych autorów, podaż antybiotyków w pierwszym tygodniu życia przez 5-7 dni u noworodków urodzonych przed 28 tygodniem ciąży powoduje w ich przewodzie pokarmowym wzrost ilości bakterii *Enterobacter*, a także zmniejszenie zróżnicowania flory bakteryjnej w następnych tygodniach życia [8]. U tych dzieci stwierdza się także istotny wzrost ryzyka wystąpienia NEC, sepsy i zgonu w porównaniu do innych, które nie są leczone w tak wczesnym okresie życia antybiotykami [9]. Obecnie, uważa się, że trwająca 2-3 dni antybiotykoterapia, stosowana od pierwszego dnia po urodzeniu, może u noworodków niedojrzałych zmniejszać ryzyko NEC-u. Opóźnienie kolonizacji przewodu pokarmowego, poprzez podaż antybiotyków pozwala bowiem „dojrzeć” mechanizmom obronnym jelit i zaledwie w ciągu 2-3 dni uszczelnić ich ścianę do poziomu noworodków donoszonych, chroniąc przed nadmierną odpowiedzią zapalną w pierwszych 48 godzinach po urodzeniu i nie zaburzając równocześnie rozwoju mikrobioty jelit [10]. W badaniach przeprowadzonych u niedojrzałych noworodków świń, podaż antybiotyków przez okres pierwszych 5 dni po urodzeniu powodowała wzrost kosmków jelitowych, większą aktywność enzymów trawiennych, większą szczelność jelit, „down-regulation” genów związanych z reakcją zapalną oraz „up-regulation” genów związanych z metabolizmem [11,12].

Z kolei, określenie *mikrobiom* oznacza zespół genów mikrobioty. Ilość komórek bakteryjnych zasiedlających błony śluzowe przewodu pokarmowego (10¹⁴ komórek) dziesięciokrotnie przekracza ilość wszystkich komórek organizmu człowieka, natomiast mikrobiom składający się z 3,3 milionów genów jest ponad 50-krotnie większy od genomu ludzkiego [4].

WCZEŚNIAKI Z OBJAWAMI ZAHAMOWANIA WZROSTU WEWNĄTRZMACICZNEGO

To szczególna grupa noworodków, która wykazuje zwiększone ryzyko nietolerancji karmienia, zapadalności na martwicze zapalenie jelit oraz zaburzeń wzrastania w okresie pierwszych tygodni po urodzeniu [13]. Ważnym objawem sugerującym u tych dzieci zwiększone (ponad dwukrotnie) ryzyko NEC jest stwierdzenie w badaniu dopplerowskim zaburzeń przepływu w tętnicy pępowinowej w okresie życia wewnątrzmacicznego. U tych pacjentów obserwuje się również długie okresy nietolerancji pokarmu, wzdęcia brzucha i częste zaleganie treści w żołądku. Ponadto, dzieci te potrzebują dłuższego czasu, aby osiągnąć tolerancję pokarmu podawanego w ilości docelowej, wynoszącej 120-150 ml/kg/dobę. Ważnym aspektem poprawiającym tolerancję pokarmu u tych dzieci jest wprowadzenie wczesnego żywienia. W publikacji Kempleya i wsp. [14] wykazano, że rozpoczęcie karmienia enteralnego w drugiej dobie życia u noworodków z zahamowaniem wewnątrzmacicznym wzrostu, urodzonych przed 35 tygodniem ciąży pozwala osiągnąć możliwość pełnego żywienia doustnego 4-5 dni wcześniej w porównaniu do dzieci, u których karmienie doustne rozpoczęto w 6 dobie życia.

Istnieje kilka mechanizmów, które mogą częściowo wyjaśnić przyczyny zwiększonego ryzyka NEC czy występowania częstszych objawów nietolerancji u noworodków z zahamowaniem wzrostu wewnątrzmacicznego. Należy zaliczyć do nich epizody niedotlenienia, okresy redystrybucji krwi z przewagą przepływu do krążenia mózgowego i ograniczaniem perfuzji w przewodzie pokarmowym, a także występowanie strukturalnych i czynnościowych zmian w jelitach oraz zaburzenie procesu kolonizacji jelit [15, 16]. Wykazano, że występujące po posiłku zwiększenie przepływu krwi przez górną tętnicę trzewną, niezbędne dla procesów trawienia, jest zaburzone u noworodków z cechami FGR (fetal-growth-restriction) [17]. Podobnie częściej u tych dzieci stwierdza się rzekomą niedrożność jelit i występowanie sepsy o późnym początku (LOS – late onset sepsis) [18, 19]. W badaniach na zwierzętach wykazano, że po urodzeniu masa jelit w zestawieniu z ich długością, a także wielkość kosmków były istotnie mniejsze w przypadkach osobników z cechami FGR [15]. Dysproporcje te utrzymywały się przez kilka pierwszych dni życia. Z kolei ilość bakterii, kolonizujących przewód pokarmowy, przylegających do śluzówki jelit u zwierząt z zaburzeniem wzrostu wewnątrzmacicznego była istotnie wyższa u dwudniowych świnek morskich urodzonych z cechami FGR, w porównaniu do zwierząt z prawidłową masą ciała.

Badania mikrobioty prowadzone przez okres od urodzenia do wieku dojrzałego u szczurów z cechami FGR wykazały zmniejszenie ilości gatunku *Bifidobacterium* oraz ograniczenie ilości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, w porównaniu do danych stwierdzanych u zwierząt z prawidłową

urodzeniową masą ciała [20]. Można więc przypuszczać, że zaburzenie wzrastania wewnątrzmacicznego może mieć wpływ na mikrobiotę przewodu pokarmowego w późniejszym okresie dorosłego życia. I tak na przykład, ograniczona dostępność niektórych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (kwasu masłowego) może mieć niekorzystny wpływ na proces proliferacji enterocytów i produkcję mucyny, co zaburza homeostazę jelit i uszkadza barierę jelitową [21, 22, 23]. Z kolei Wang i wsp. [24] wykazali, że FGR może prowadzić u zwierząt do stałego uszkodzenia procesu rozwoju i dojrzewania jelit. Z tego wniosek, że u noworodków urodzonych z cechami zahamowania wzrostu wewnątrzmacicznego, zachodzą zmiany w przewodzie pokarmowym, które predysponują te dzieci zarówno do nietolerancji pokarmu, jak i zwiększają ryzyko wystąpienia u nich martwiczego zapalenia jelit.

Właściwe żywienie enteralne powinno być sprawą priorytetową w przypadku noworodka FGR. Zastosowanie u tych dzieci probiotyków może korzystnie wpływać na perystaltykę jelit, poprzez działanie produkowanych przez nie na drodze fermentacji, takich substancji, jak krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Oddziałują one na układ neuroendokryny jelit czy tkankę limfatyczną i w ten sposób wyzwalają odpowiedź immunologiczną w reakcji na obecność bakterii probiotycznych. Główną rolę odgrywa tu kwas masłowy [25]. Spośród bakterii probiotycznych, mogących istotnie wpływać na proces tolerancji karmienia należy wymienić *Lactobacillus reuteri*. W przypadku tego probiotyku udowodniono metodami obiektywnymi jego korzystny wpływ na szybkość opróżniania żołądka [26]. Należy przy tym pamiętać, że efekt tego probiotyku może być istotnie ograniczony przez stosowanie mieszanek mlecznych, płynów o wysokiej osmolarności czy wreszcie przez fototerapię wykorzystywaną w leczeniu żółtaczki noworodków.

NOWORODKI URODZONE DROGĄ CIĘCIA CESARSKIEGO

Dzieci urodzone drogą cięcia cesarskiego kolonizują się mikroorganizmami występującymi na skórze matki oraz w otaczającym środowisku, a nie bakteriami obecnymi w kanale rodym matki. Przeważają u nich w przewodzie pokarmowym bakterie rodzaju *Staphylococcus*, *Corynebacterium* i *Propionibacterium* czy *Clostridium*, mniej liczne są *Escherichia coli* i *Bacterioides fragilis*. Poród drogą cięcia cesarskiego skutkuje wystąpieniem licznych czynników zaburzających kolonizację przewodu pokarmowego u potomstwa, do których należy m.in. stosowanie antybiotyków. Po urodzeniu laktacja występuje w późniejszym okresie, niż to się dzieje po porodzie siłami natury. Kontakt matki z noworodkiem w systemie rooming-in jest opóźniony lub niemożliwy w pierwszych godzinach po urodzeniu. Ustabilizowanie się mikrobioty u noworodków urodzonych przez cięcie cesarskie następuje dopiero około 6 miesiąca życia [27]. U tych pacjentów dominuje

proalergiczny profil cytokin i często stwierdza się zaburzenie równowagi populacji limfocytów Th1 do Th2, co koreluje z ryzykiem atopii. Wykazano, że noworodki urodzone drogą cięcia cesarskiego mają wyższe ryzyko rozwoju astmy, atopowego zapalenia skóry, celiakii, cukrzycy 1 typu oraz otyłości.

PROGRAMOWANIE MIKROBIOTYCZNE – PODAŻ PROBIOTYKÓW

Ponieważ drobnoustroje zasiedlające organizm we wczesnym dzieciństwie w istotny sposób mogą determinować dojrzewanie i dalsze zdrowie w dorosłym życiu, pojawia się koncepcja tzw. programowania mikrobiotycznego. Jednym z elementów prawidłowej kolonizacji przewodu pokarmowego pozostaje stosowanie probiotyków. Najlepiej przebadanymi szczepami probiotycznymi są bakterie rodzaju *Lactobacillus* (*L. rhamnosus GG*, *L. acidophilus LB*, *L. Plantarum 299v*, *L. johnsoni Lal*, *L. casei Shirota*, *L. fermentum KDL*, *L. reuteri*) z rodzaju *Bifidobacterium* (*B. lactis Bb12*) oraz *Streptococcus thermophilus*, a spośród grzybów *Saccharomyces boulardii*.

Probiotyk powinien być preparatem bezpiecznym, a zawarte w nim bakterie nie mogą powodować infekcji. Szczep *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* zostały uznane jako generalnie bezpieczne (status GRAS - generally regarded as safe). Opisano wprawdzie pojedyncze przypadki sepsy, przy zastosowaniu *Saccharomyces boulardii* czy *Lactobacillus*, ale prawdopodobnie związane to było z podażą probiotyku dzieciom, będącym w bardzo ciężkim stanie klinicznym. Stosowanie probiotyków, zwłaszcza u niedojrzałych noworodków należy rozpoczynać, uwzględniając zarówno obecność perystaltyki, stan ukrwienia śluzówki, a także prawidłową tolerancję karmienia [28]. Jak wiadomo, szybkość kolonizacji przewodu pokarmowego poszczególnym probiotykiem zależna jest nie tylko od właściwości danego szczepu bakterii, ale również od dojrzałości i wieku noworodka. Okazuje się, że udokumentowana kolonizacja nie musi być koniecznym czynnikiem dla uzyskania korzystnych efektów podaży probiotyku. Ostatnio Yamasaki i wsp. [29] wykazali, że podaż *Bifidobacterium breve* przed 48 godziną życia noworodka przyspieszała tolerancję zwiększanych porcji pokarmu, a także powodowała lepszy przyrost masy ciała w porównaniu do późniejszej (po 48 godzinie życia) podaży tego probiotyku. Przy czym należy podkreślić, że ilość *Bifidobacterium* w stolcu była w obu grupach badanych noworodków porównywalna zarówno pod koniec pierwszego, jak i czwartego tygodnia życia dziecka. Na podstawie wyników kilku badań wydaje się, także iż podaż wielu szczepów probiotyków w tym samym czasie może dawać lepsze efekty przy stosowaniu bakterii probiotycznych. Nie wiadomo jednak czy korzystny efekt takiej podaży wynika z synergistycznego działania różnych szczepów czy też z większej ilości bakterii podawanej tym sposobem. W badaniach Ishizeki i wsp. [30] wykazano, że podaż wielu szczepów bakterii

probiotycznych (*Bifidobacterium breve*, *longum*, *infantis*) w takim samym stężeniu, czyli 5×10^8 przez 6 tygodni, u noworodków z małą urodzeniową masą ciała, powodowała u nich znaczny wzrost ilości bifidobakterii już pomiędzy 1 a 6 tygodniem stosowania w porównaniu do grupy noworodków, u których stosowano jedynie *Bifidobacterium breve* w takiej samej dawce. Ponadto, proporcja bifidobakterii w stolcu, u dzieci którym podawano różne szczepy bifidobakterii, w stosunku do wszystkich innych bakterii oznaczanych w stolcu była istotnie większa w tej grupie badanych. Co ważniejsze, proporcja bifidobakterii do enterobakterii u tych dzieci była istotnie większa. A zatem podaż 3 szczepów bifidobakterii wydaje się być bardziej korzystną w porównaniu do stosowania tylko jednego szczepu tych bakterii.

Potencjalnie korzyści z podaży probiotyków mogą dotyczyć noworodków urodzonych drogą cięcia cesarskiego, wcześniaków oraz noworodków FGR. W przypadku noworodków urodzonych przez cięcie cesarskie korzystne efekty stosowania probiotyków w zapobieganiu alergii i AZS (atopowe zapalenie skóry) wykazano już w badaniach klinicznych [31]. Z kolei podaż probiotyków ciężarnym kobietom oraz ich dzieciom we wczesnym niemowlęctwie zmniejszała stężenie IgE i zależnych od IgE epizodów alergii [32]. Ta zależność była szczególnie wyraźna właśnie u noworodków urodzonych cięciem cesarskim. Mniej dowodów klinicznych wskazuje na korzyści podaży probiotyków w prewencji astmy. Probiotyki zalecane przez WAO (World Allergy Organization) w profilaktyce alergii podawano kobietom w ciąży, karmiącym piersią i noworodkom z grup ryzyka. Jednakże w tym przypadku nie wskazano konkretnego szczepu i nie określono także długości podaży probiotyku [33].

Podobne wątpliwości budzi ostatnio podaż probiotyków, mająca na celu zmniejszenie ryzyka wystąpienia NEC-u. Spośród 34 badań randomizowanych, oceniających wpływ podaży probiotyków, na ryzyko wystąpienia NEC, jedynie w 17 badaniach wykazano zmniejszone ryzyko tej choroby, podczas gdy w kolejnych 11 badaniach stwierdzono brak różnicy w ryzyku wystąpienia NEC, a w dalszych 6 wykazano jedynie trend obniżający ryzyko NEC. Autorzy największego do tej pory badania randomizowanego, oceniającego wpływ podaży probiotyków na ryzyko wystąpienia NEC, przeprowadzonego w grupie 1315 wcześniaków, na podstawie uzyskanych wyników nie rekomendują rutynowego stosowania probiotyków w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia NEC [34].

Podobnie, Amerykańska Akademia Pediatrii przedstawiła w listopadzie 2021 roku stanowisko, w którym stwierdza, iż aktualnie nie ma podstaw do rutynowego, powszechnego stosowania probiotyków, w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia NEC i dotyczy to zwłaszcza noworodków z urodzeniową masą ciała < 1000 g. Wyniki aktualnych badań nie wskazują jednoznacznie na korzystne efekty suplementacji probiotyków w grupie noworodków o wysokim ryzyku wystąpienia NEC [35].

Podobne stanowisko prezentuje NEC Society, organizacja non-profit, mająca na celu ograniczenie częstości wystąpienia NEC, która formułuje zalecenia w następujący sposób: „należy prowadzić dalsze badania nad zrozumieniem działania probiotyków, identyfikować pacjentów, dla których poszczególne szczepy bakterii powinny być brane pod uwagę przy ograniczaniu ryzyka wystąpienia NEC” [36].

Pewien niepokój muszą budzić wnioski płynące z badań dotyczących zawartości bakterii w poszczególnych preparatach probiotycznych. I tak okazało się, że aż w 10, spośród 24 badanych produktów, nie stwierdzono deklarowanej ilości bakterii, a w 4 z nich nie wykazano żadnej bakterii opisanej na etykiecie produktu [37].

PODSUMOWANIE

Żywnienie pokarmem naturalnym dostarcza dziecku zarówno korzystne bakterie, jak i niezbędne prebiotyki, którymi są oligosacharydy w liczbie ponad 150 różnych cząsteczek, stanowiących pożywkę dla *Bifidobacterium* w jelicie grubym. Ponadto, z pokarmem dostarczana jest immunoprotekcyjna IgAs, czy laktoferyna, które obniżają ryzyko NEC [38].

Zarówno różnorodność szczepów bakterii znajdujących się w pokarmie naturalnym, a także znaczna zmienność tej flory w trakcie laktacji ukazują jak trudno byłoby ustalić idealny skład bakterii w idealnym preparacie probiotycznym. Do tego należałoby dodać osobniczą zmienność budowy śluzówki jelit, różnice dotyczące produkcji mucyny oraz ilości odpowiednich receptorów dla danego probiotyku. Co więcej, wiadomym jest, że kolonizacja przewodu pokarmowego po urodzeniu zachodzi nie tylko przy udziale podawanych bakterii probiotycznych, ale także zależy od obecności bakterii znajdujących się w środowisku, w którym przebywa noworodek. W tym zakresie zróżnicowanie może być jeszcze większe. A zatem, w chwili obecnej, nie można udzielić odpowiedzi twierdzącej na pytanie czy jest możliwość wyprodukowania probiotyku, który „zadowoliliby” wszystkie noworodki na całym świecie. Są natomiast poszczególne preparaty, które w randomizowanych badaniach kontrolnych wykazały skuteczność, np. w ograniczaniu sepsy o późnym początku u noworodków urodzonych przedwcześnie, przy równoczesnym braku objawów niepożądanych w trakcie stosowania. Do takich, przebadanych w naszych polskich ośrodkach neonatologicznych należy probiotyk FFbaby [39].

Obecnie nasuwa się pytanie czy istnieje sytuacja kliniczna, która stanowiłaby wyraźne przeciwwskazanie do stosowania probiotyków? Na podstawie obserwacji przeprowadzonych u osób dorosłych można stwierdzić, że znaczne rozdęcie pętli jelit, zwiększające możliwość translokacji bakterii do krwi może stanowić przeciwwskazanie do stosowania probiotyków, zwłaszcza w ciężkim stanie klinicznym pacjenta [40]. W tym kontekście należałoby również ograniczyć podaż prebiotyków, które nasilają procesy fermentacji mogą

niekorzystnie wpływać na rozdęcie pętli jelitowych i powodować ich niedokrwienie, a następnie uszkodzenie szczelności przewodu pokarmowego.

Wybiegając nieco w przyszłość, można spodziewać się coraz szerszego wykorzystania bakterii probiotycznych w procesie terapeutycznym chorób przewodu pokarmowego. Bakterie te po odpowiednim przygotowaniu, stanowią bowiem idealny nośnik dla wielu leków, których biodostępność, jak i skuteczność działania w miejscu schorzenia mogą być znacznie poprawione przy wykorzystaniu probiotyków. Takie próby podejmuje się już w leczeniu zakażeń wywołanych przez mikroorganizm *Helicobacter pylori* [41].

PIŚMIENNICTWO

1. Sherman MP, Zaghouni H, Niklas V. Gut microbiota, the immune system, and diet influence the neonatal gut- brain axis. *Pediatr Res* 2015;77(1-2):127-135.
2. Cong X, Henderson WA, Graf J, McGrath JM, *Adv Neonatal Care* 2015; 15(5):314-323.
3. Kwiecień J, Wpływ mikrobiomu jelitowego na czynność układu nerwowego i zachowanie człowieka. *Standardy Medyczne/ped* 2016;13:183-188.
4. Martin R, Nauta A.J, Ben Amor K *wsp.* Early life: gut microbiota and immune development in infancy. *Beneficial Microbes* 2010;1(4):367-382.
5. Levy O. Innate immunity of the newborn: Basic mechanisms and clinical correlates. *Immunology* 2007;7,379-390.
6. Shamir R, Van Elburg R, Knoll J, Dupont C(*red*), Wiley Publishing Asia Pty Ltd, Brisbane Australia, 2015.
7. Cernada M, Bauerl C, Serna E *i wsp.* Sepsis in preterm infants causes alterations in mucosal gene expression and microbiota profiles compared to non-septic twins. *Sci Rep* 2016; 6,25497;doi: 10.1038/srep25497.
8. Greenwood C, Morrow AL, Lagomarcino AJ *i wsp.*, Early empiric antibiotic use in preterm infants is associated with lower bacterial diversity and higher relative abundance of *Enterobacter* *J Pediatr* 2014;165:23-29
9. AlFaleh K, Anabrees, Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Evid-Based Child Health* 2014;9(3):584-671.
10. Kim CS, Grady N, Derrick M *i wsp.* Effect of antibiotic use within first 48 hours of life on the preterm infant microbiome: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr* 2021;175:303-305.
11. Jensen M, Thymann T, Cilieborg MS*wsp.* Antibiotics modulate Intestinal immunity and prevent NEC in preterm neonatal piglets. *Am J PhysiolGastrointest Liver Physiol* 2014;306:59-71.
12. Birck MM, Nguyen DN, Cilieborg MS *i wsp.* Enteral but not parenteral antibiotics enhance gut function and prevent NEC in formula-fed newborn preterm pigs. *Am J PhysiolGastrointest Liver Physiol* 2016;310:323-333.
13. Dorling J, Kempley S, Leaf A. Feeding growth restricted preterm infants with abnormal antenatal Doppler results. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005;90:F359-F363.
14. Kempley S, Gupta N, Linsell L *i wsp.* ADEPT Trial Collaborative Groups. Feeding infants below 29 week's gestation with abnormal antenatal Doppler: analysis from a randomized trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2014;99:F6-F11.
15. D'Inca R, Kloareg M, Gras-Le Guen C *i wsp.* Intrauterine growth restriction modifies the developmental pattern of intestinal structure, transcriptomic profile, and bacterial colonization in neonatal pigs. *J Nutr* 2010;140:925-931.
16. Fanca-Berthon B, Hoebler C, Mouzet E *i wsp.* Intrauterine growth restriction not only modifies the cecocolonic microbiota in neonatal rats but also affects its activity in young adult rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;51:402-413.
17. Cherbut C. Motor effects of short-chain fatty acids and lactate in the gastrointestinal tract. *Proc Nutr Soc* 2003;62:95-99.

18. Soret R, Chevalier J, De Coppet P, i wsp. Short-chain fatty acids regulate the enteric neurons and control gastrointestinal motility in rats. *Gastroenterology* 2010;138:1772-1782.
19. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F i wsp. The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits and gastrointestinal motility in preterm newborns. *J Pediatr* 2008;152:801-806
20. Franca-Berthon P, Michel C, Pagniez A i wsp. Intrauterine growth restriction alters postnatal colonic barrier maturation in rats. *Pediatr Res* 2009;66:47-52.
21. Gaudier E, Jarry A, Blottiere HM i wsp. Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. *A, J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;287:1168-1174.
22. Barcello A, Claustre J, Moro F i wsp. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut* 2000;46:218-224.
23. Franca-Berthon P, Michel C, Pagniez A et al. Intrauterine growth restriction alters postnatal colonic barrier maturation in rats. *Pediatr Res* 2009;66:47-52.
24. Wang X, Wu W, Lin G, i wsp. Temporal proteomic analysis reveals continuous impairment of intestinal development in neonatal piglets with intrauterine growth restriction. *J Proteome Res* 2010;9:924-935.
25. Soret R, Chevalier J, De Coppet P, i wsp. Short-chain fatty acids regulate the enteric neurons and control gastrointestinal motility in rats. *Gastroenterology* 2010;138:1772-1782.
26. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F i wsp. The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits and gastrointestinal motility in preterm newborns. *J Pediatr* 2008;152:801-806
27. Dominguez- Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M i wsp. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns *PNAS* 2010;107(6):11971-11975.
28. Hunter C, Dimaguila MA, Gal P i wsp., Effect of routine probiotic, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 use on rates of necrotizing enterocolitis in neonates with birthweight < 1000g: a sequential analysis. *BMC Pediatr* 2012, 12: 142.
29. Yamasaki C, Totsu S, Uchiyama A i wsp.: Effects of *Bifidobacterium* administration on very-low-birthweight infants. *Pediatr Int* 2012; 54:651-656
30. Ishizeki S, Sugita M, Takata M, Yaeshima T. Effect of administration of bifidobacteria on intestinal microbiota in low-birth-weight infants and transition of administered bifidobacteria: a comparison between one-species and three-species administration. *Anaerobe* 2013;23:38-44.
31. Azad MB, Coney JG, Kozylsryj AL, Field CJ i wsp. Probiotic supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of asthma and wheeze: systematic review and meta- analysis. *BMJ* 2013;347:f6471.
32. Elazab N, Mendy A, Gasana J, Vieira ER i wsp. Probiotics Administration in Early Life, Atopy, and Asthma: A Meta- analysis of Clinical Trials. *Pediatrics* 2013;132:e666-e676.
33. Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-Garcia C, Ahn K i wsp. World Allergy Organization- McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. *WAO Jour* 2015;8:4.
34. Costeloe K, Bowler U, Brocklehurst P i wsp., Probiotics in Preterm Infants Study Collaborative Group. *Bifidobacterium breve* BBG-001 in very preterm infants: a randomized controlled phase 3 trial. *Lancet* 2016;387:649-660.
35. Poindexter B, Use of probiotics in preterm infants. *Pediatrics* 2021;147:1-7.
36. Probiotics & NEC: family-clinician communication. 12 November 2022; <https://necsociety.org/probiotics/>
37. Lewis ZT, Shani G, Masarweh CF i wsp, Validating bifidobacterial Species and Subspecies identity in commercial probiotics products. *Pediatr Res* 2016; 79:445-502.
38. Quigley M, Embleton ND, McGuire W. Formula versus donor Breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2019; 7:CD002971
39. Strus M, Helwich E, Lauterbach R I wsp. Effects of oral probiotics supplementation on gut *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations and the clinical status of low-birth-weight preterm neonates: a multicenter randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Infect Drug Resist* 2018,11:1557-1571.
40. Soeters PB. Probiotics: did we go wrong and if so, where? *Clin Nutr* 2008;27: 173-178.
41. Culligan EP, Hill C, Sleator RD. Probiotics, and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects. *Gut Pathol* 2009;23:1-19.

data przyjęcia pracy - 2.05.2023
data akceptacji - 22.05.2023