



Uloga humanog mlijeka u prevenciji bolesti nedonoščadi

The role of human milk in the prevention of preterm infant diseases

Anita Pavičić Bošnjak¹✉

¹ Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Hrvatska banka tkiva i stanica, Banka humanog mlijeka, Odjel za podršku dojenju

Ključne riječi

MAJČINO MLJEKO, DAROVANO HUMANO MLJEKO, NEDONOŠČE, NEKROTIZIRAJUĆI ENTEROKOLITIS

Keywords

HUMAN MILK, DONOR HUMAN MILK, PRETERM INFANT, ENTEROCOLITIS NECROTICANS

SAŽETAK. Majčino mlijeko najbolja je hrana za nedonoščad te pridonosi njihovom rastu, razvoju i ukupnim zdravstvenim ishodima. Brojne imunogeno aktivne komponente u majčinu mlijeku utječu na razvoj djetetova imunogenog sustava i štite ga od bolesti. Darovano humano mlijeko (DHM) također ima važnu ulogu u zaštiti od bolesti jer je nakon procesa pasteurizacije njegova imunološka uloga u određenoj mjeri sačuvana. Recentna istraživanja i rezultati meta-analiza pokazali su da prehrana majčinim mlijekom i/ili DHM-om dokazano štiti od pojave nekrotizirajućeg enterokolitisa (NEC) te da je povezana sa znatno manjim rizikom pojavnosti bronhopulmonalne displazije i retinopatije nedonoščadi. U prevenciji ovih bolesti nedonoščadi, prehrana bilo kojom količinom humanog mlijeka (HM) bolja je od prehrane dojenačkom formulom, dok su neke studije pokazale o dozi ovisan učinak unosa HM-a. Učinak HM-a na prevenciju sepse u nedonoščadi nije dosljedan, no orofaringealna primjena kolostroma pokazala se učinkovitom u zaštiti od kasne sepse i NEC-a, zbog čega je primjena majčinog mlijeka od prvoga dana života iznimno važna kako bi se u cijelosti iskoristio njegov zaštitni potencijal. Posljednjih su godina znanstvene spoznaje dovele do boljeg razumijevanja uloge pojedinih biološki aktivnih komponenti majčinog mlijeka u prevenciji bolesti nedonoščadi. Međutim, tek se primjenom cjelovitog „eliksira“ majčinog mlijeka, sa svom složenosti njegova sastava i međudjelovanjima tvari, može postići znatne dobrobiti za zdravlje. Navedene spoznaje podržavaju činjenicu da je HM za nedonoščad i hrana i preventivni terapijski lijek. U tome je smislu jedna od ključnih zadaća suvremene neonatalne skrbi zalagati se za prehranu HM-om u sve nedonoščadi.

SUMMARY. Human milk (HM) is the best food for preterm infants and it contributes to their growth, development and overall health outcomes. Numerous immunologically active components in mother's milk affect the development of the child's immune system and protect it from diseases. Donated human milk (DHM) also plays a significant role in disease prevention because after the pasteurization process, its protective role is to a certain extent preserved. In recent years, the results of meta-analyses have shown that mother's own milk and/or DHM feeding is proven to protect preterm infants from the onset of necrotizing enterocolitis (NEC) and is associated with a significantly lower risk of bronchopulmonary dysplasia and retinopathy of prematurity. In the prevention of these diseases, feeding with any amount of human milk (HM) is better than feeding with infant formula, while some studies have shown a dose-dependent effect of HM intake. The effect of HM on the prevention of late-onset sepsis is not consistent, but the oropharyngeal application of colostrum has been shown to be effective in the prevention of late-onset sepsis and NEC, which is why the use of breast milk from the first day of life is extremely important in order to fully utilize its protective potential. Recent scientific findings have led to a better understanding of the role of certain biologically active components of breast milk in the diseases prevention in preterm infants. However, only the application of the complete "elixir" of mother's milk, with all the complexity of its composition and interactions of substances, can result in significant health benefits. The aforementioned findings support the fact that HM for preterm infants is both food and a preventive *therapeutic drug*. In this sense, one of the key tasks of modern neonatal care is to provide HM feeding for all preterm infants.

Prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije, Američke pedijatrijske akademije i Europskog udruženja za dječju gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu, svako nedonošče trebalo bi biti hranjeno mlijekom vlastite majke (MVM), bilo direktno na prsima ili izdojenim majčinim mlijekom, a ako to nije moguće, tada darovanim humanim mlijekom (DHM) iz banke humanog mlijeka (1, 2, 3). Stoga pojam prehrane humanim mlijekom (HM) uključuje dojenje i/ili hranjenje izdojenim MVM-om i DHM-om.

Prema različitim istraživanjima, pri otpustu iz jedinice intenzivnog neonatalnog liječenja (JINL) isključivo HM-om hrani se između 28% i 77% sve nedonoščadi (4). Istraživanje u 11 europskih zemalja među nedono-

✉ Adresa za dopisivanje:

Izv. prof. prim. dr. sc. Anita Pavičić Bošnjak, dr. med., Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Hrvatska banka tkiva i stanica, Banka humanog mlijeka, Odjel za podršku dojenju, Petrova 13, 10000 Zagreb, e-pošta: apavici1@kbc-zagreb.hr

TABLICA 1. IMUNOLOŠKI I PROTUUPLANI ČIMBENICI U MAJČINOM MLIJEKU
TABLE 1. IMMUNOLOGICAL AND ANTI-INFLAMMATORY FACTORS IN BREAST MILK

Imunoglobulini / Immunoglobulins	sIgA, IgG, IgM
Nespecifični čimbenici / Nonspecific factors	Komplement, kemotaktički čimbenik, properdin faktori, interferon, α -fetoprotein, antistafilokokni čimbenik, protuprijanjajuće tvari (oligosaharidi, mucini, laktadherin, glikolipidi i glikozaminoglikani), hormoni i faktori rasta (prolaktin, kortizol, inzulin, tiroksin, prostaglandini, VEGF, TGF, eritropoetin), gangliozi, antivirusni čimbenici, čimbenik inhibicije migracije, α -laktalbumin, nukleotidi, dugolančane višestruko-nezasićene masne kiseline / Complement, chemotactic factors, properdin factors, interferon, α -fetoprotein, antistaphylococci factors, antiadherence substances (oligosaccharides, mucins, lactadherin, glycolipids and glycosaminoglycans), hormones and growth factors (prolactin, cortisol, insulin, thyroxin, prostaglandins, VEGF, TGF, erythropoetin), gangliosides, antiviral factors, migration inhibition factor, α -lactalbumin, nucleotides, long-chain polyunsaturated fatty acids
Citokini, kemokini i receptori / Cytokines, chemokines, and receptors	IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18, IFN- γ , TNF- α , G-CSF, M-CSF, GM-CSF, TGF β 1 i 2, topljivi CD14, Toll-like receptor / IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18, IFN- γ , TNF- α , G-CSF, M-CSF, GM-CSF, TGF β 1 and -2, soluble CD14, Toll-like receptor
Protuuplani čimbenici / Antiinflammatory factors	IL-10, TGF β 2, glukokortikoidi, antioksidansi (α -tokoferol, β -karoten, lutein, vitamin E, katalaza, glutatione peroksidaza), laktoferin, topljivi TNF- α receptori I i II / IL-10, TGF β 2, glucocorticoids, antioxidants (α -tocopherol, β -carotene, lutein, vitamin E, catalase, glutathione peroxidase), lactoferrin, soluble TNF- α receptors I and II
Prebiotici / Prebiotics	Oligosaharidi / Oligosaccharides
Nosači bjelančevina / Carrier proteins	Laktoferin, transferin, bjelančevina koja veže vitamin B-12 / Lactoferrin, transferrin, vitamin B-12 binding protein
Enzimi / Enzymes	Lizozim, leukocitni enzimi, PAF-acetilhidrolaza / Lysozyme, leukocyte enzymes, PAF-acetylhydrolase
Stanice / Cellular	Makrofagi, neutrofili, limfociti T i B, epitelne stanice / Macrophages, neutrophils, lymphocytes, epithelial cells

Modificirano prema Lawrence RA, Lawrence RM. Breastfeeding: A guide for the medical profession, 9th ed. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2022. i Chirico G i sur. Antiinfective properties of human milk. J Nutr. 2008;138(9):1801S-6S.

CSF – čimbenik stimulacije kolonija / Colony-stimulating factor; EGF – epidermalni čimbenik rasta / epidermal growth factor; G – granulocit / granulocyte; IL – interleukin; IFN – interferon; M – makrofag / macrophage; PAF – čimbenik aktivacije trombocita / platelet-activating factor; TGF, transformirajući čimbenik rasta / transforming growth factor; TNF – tumor nekrotizirajući čimbenik / tumor necrosis factor; VEGF – vaskularnog endotelijalnog faktora rasta / vascular endothelial growth factor

ščadi vrlo niske rodne mase (VNRM, <1500 g) pokazalo je da se samo 58% (raspon 36% – 80%) njih hrani HM-om u bilo kojoj količini (5). Uspostavljanje i održavanje laktacije za mnoge je majke izazov i može biti ometeno različitim čimbenicima uključujući stresom zbog prijevremenog rođenja djeteta, zdravstvenom kondicijom majke i nedostatnom podrškom za dojenje. Primjenom DHM-a u JINL-u nastoji se premostiti razdoblje u kojemu majka još nema dovoljno vlastitog mlijeka za zadovoljenje potreba svoga djeteta do razdoblja kada je to ostvareno, te utjecati na porast stope dojenja u nedonoščadi (5, 6). Procjenjuje se da danas u svijetu djeluje 756 banaka humanog mlijeka u 66 zemalja.

Posljednjeg su desetljeća brojna istraživanja ispitivala nutritivne, imunološke i razvojne prednosti prehrane HM-om za zdravlje nedonoščadi. Posebno se ističe zaštitna uloga HM-a u smislu prevencije bolesti nedonoščadi te postizanja pozitivnih kratkoročnih (npr. manja učestalost nekrotizirajućeg enterokolitisa, NEC) i dugoročnih zdravstvenih ishoda (npr. manja učestalost metaboličkog sindroma, bolje kardiovaskularno zdravlje i bolji neurorazvojni ishodi) (2). U ovom preglednom radu bit će prikazane suvremene spoznaje o imunosnoj ulozi HM-a te rezultati sustavnih pregleda i meta-analiza objavljenih u posljednjih pet godina (2018. – 2022.) o učinkovitosti primjene HM-a u pre-

venciji NEC-a, kasne sepse, bronhopulmonalne displazije (BPD) i retinopatije nedonoščadi (ROP).

Bioaktivne tvari u majčinom mlijeku

Majčino mlijeko sadrži brojne bioaktivne tvari koje djeluju protuuupalno, antimikrobno i imunomodulirajuće (Tablica 1). Većina bioaktivnih tvari u većoj je količini zastupljena u kolostrumu nego u zreloom mlijeku. Kolostrum, koji se proizvodi u malim količinama u prvih nekoliko dana nakon poroda, osobito je bogat imunosno aktivnim tvarima, kao što su sekretorni imunoglobulin A (IgA), laktoferin, oligosaharidi i epidermalni faktor rasta (engl. *epidermal growth factor*, EGF), te leukocitima. Primjerice, prosječna razina EGF-a 2000 puta je viša u kolostrumu i 100 puta viša u zreloom mlijeku u usporedbi s majčinim serumom (7). Kolostrum također sadrži relativno niske koncentracije laktoze, što pokazuje da su njegove primarne funkcije imunosne i trofičke, a ne prehranbene. Zbog toga su orofaringealna primjena kolostruma i započinjanje prehrane majčinim mlijekom od prvoga dana života iznimno važne kako bi se u cijelosti iskoristio zaštitni potencijal majčinog mlijeka. Također, razina nekih bioaktivnih tvari viša je u prenaturnom mlijeku (mlijeko majki nedonoščadi) nego u terminskom mlijeku, bilo da je ta razlika izražena samo u početku laktacije

(npr. IgA, EGF) ili tijekom razdoblja laktacije (npr. laktoferin, glikozaminoglikani, transformirajući faktor rasta TGF β), što dodatno ističe važnost prehrane nedonoščeta MVM-om (7, 8).

Majčino mlijeko sadrži i druge biološki aktivne komponente koje imaju ulogu u prevenciji bolesti nedonoščadi, kao što su mikrobiota majčinog mlijeka i mikroRNK. Komenzalne i probiotičke bakterije u majčinom mlijeku iz roda *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* u dojene djece koloniziraju probavni sustav, doprinose razvoju zdrave crijevne mikrobiota (osobito *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*) i utječu na razvoj djetetova imunološkog sustava. Ako se nedonošče ne hrani majčinim mlijekom, remeti se sastav njegove crijevne mikrobiota (disbioza) prema manje poželjnom. To ga čini sklonijim bolestima kao što su NEC i kasna sepsa, dok se u dugoročnom smislu disbioza povezuje s pojavom atopijskih bolesti, pretilosti, šećerne bolesti i kroničnih upalnih bolesti crijeva. MikroRNK su male nekodirajuće molekule RNK koje utječu na ekspresiju gena. Jedna od njihovih osnovnih funkcija jest da utječu na sazrijevanje i diferencijaciju T i B-limfocita i regulaciju imunološkog odgovora, a time i na zaštitu od upala (9).

Bioaktivne tvari u darovanom humanom mlijeku

Darovano HM, u usporedbi sa svježim, nepasteriziranim majčinim mlijekom, ima manje količine i/ili aktivnosti nekih biološki funkcionalnih komponenti mlijeka. To je rezultat termičke obrade mlijeka metodom Holder pasterizacije (HoP; 62,5°C, 30 minuta), a dodatnu, iako znatno manju ulogu imaju i ciklusi zamrzavanja-odmrzavanja DHM-a. Ipak, imunosna svojstva DHM-a u znatnoj su mjeri sačuvana i nakon postupka pasterizacije, stoga njegova primjena ima blagotvoran učinak na prevenciju bolesti u nedonoščadi. Istraživanja su pokazala da HoP nema učinak na oligosaharide, dugolančane višestruko-nezasićene masne kiseline (eng. *long-chain polyunsaturated fatty acids*, LCPUFA), ukupan sadržaj masti i profil masnih kiselina, glikozaminoglikane, gangliozide, vitamine A, D, E i B12, neke citokine (interleukin (IL)-2, -4, -5, -13, 17) i neke čimbenike rasta (EGF, HB-EGF, TGF- β 1, TGF- β 2). Štoviše, HoP povećava koncentraciju protuupalnog citokina IL-7, upalnog citokina IL-8, faktora stimulacije granulocitno-makrofagnih kolonija (GM-CSF) i slobodne amino kiseline glutamina (3, 10, 11).

HoP blago do umjereno smanjuje koncentracije IgA i sekretornog IgA za 20% – 30% (raspon 0% – 48%) i aktivnosti ovih Ig za 33% – 39%. Koncentracija IgG smanjena je za 23% – 34%, dok je koncentracija IgM veoma smanjena do gotovo potpunog gubitka (50% – 100%). Značajan gubitak koncentracije i/ili aktivnosti zabilježen je za laktoferin (35% – 90%), lizozim (24% – 60%), citokine IL-10, IL-6, faktor nekroze tumora- α

(TNF- α) i interferon γ , inzulinu sličan faktor rasta 1 (IGF1) i eritropoetin, te antioksidanse glutation i glutation peroksidazu, međutim ukupan je antioksidativni kapacitet HM-a nakon postupka pasterizacije očuvan. HoP uništava leukocite, mikro RNK, bakterije i viruse u majčinom mlijeku (3, 10, 11).

Humano mlijeko u prevenciji nekrotizirajućeg enterokolitisa

Nekrotizirajući enterokolitis je akutna upalna bolest sluznice crijeva koja pogađa oko 7% nedonoščadi (12). Jedan je od vodećih uzroka pobolijevanja nedonoščadi, posebice onih VNRM-om, sa smrtnošću 20% – 30%. Patogeneza NEC-a nije sasvim razjašnjena, a čimbenici rizika za ovu bolest uključuju nedonošenost, VNRM, porod carskim rezom, nedostatak hranjenja majčinim mlijekom, promjene u crijevnom mikrobiomu, neadekvatnu crijevnju perfuziju i izloženost lijekovima kao što su antibiotici i blokatori kiseline (12).

Jedini dokazan i najbolji način prevencije NEC-a jest prehrana majčinim mlijekom. Recentni sustavni pregledi i meta-analize rezultata randomiziranih kliničkih studija (RCT) i opažajnih (opservacijskih) studija dosljedno pokazuju da prehrana HM-om (MVM s dodatkom DHM-a ili bez njega) u usporedbi s dojenačkom formulom smanjuje rizik pojave NEC-a (13, 14, 15). Meta-analiza Altobelli i sur. koja je uključila šest RCT-a, utvrdila je smanjenje rizika od pojave NEC-a za 38% u nedonoščadi hranjene HM-om u usporedbi s nedonoščadi hranjenom dojenačkom formulom (omjer rizika /RR/ 0,62, 95% interval pouzdanosti /CI/ 0,42 – 0,93) (13). Autori su također utvrdili da je zaštita od NEC-a to veća što je veća količina HM-a koju je nedonošče primilo. Tako je analiza 7 opservacijskih studija s 2453 nedonoščadi pokazala smanjenje rizika od pojave NEC-a za 49% kad se usporedila prehrana većom nasuprot manjom količinom majčinog mlijeka. O dozi ovisan učinak prehrane HM-om izvijestila je i meta-analiza Miller i sur. (14). Unos bilo koje količine HM-a pokazao se boljim nego prehrana formulom za nedonoščad smanjujući incidenciju NEC-a za 4%. Ovaj je rezultat utvrđen na temelju zasebnih meta-analiza za RCT i opservacijske studije i bio je jednak u objema podskupinama.

Strobel i sur. usporedili su učinak prehrane MVM-om (kada je >50% prehrane činilo MVM) i dojenačke formule (kada je >50% prehrane činila formula). Analiza je uključila 15 opservacijskih studija. Nedonoščad hranjena dojenačkom formulom imala je 3 puta veću šansu za pojavnost NEC-a nego nedonoščad hranjena MVM-om (omjer šansi /OR/ 2,99; 95% CI 1,75 – 5,11) (15). Posebno treba istaknuti studiju Cossey i sur. (16), jedinu RCT koja je ispitala učinak pasterizacije majčinog mlijeka na pojavnost bolesti u nedonoščadi. U toj je studiji 303 nedonoščadi VNRM primalo svježe ili pasterizirano MVM tijekom prvih 8 tjedana života.

Nije nađena razlika u pojavnosti NEC-a između ovih dviju skupina nedonoščadi, ni razlika u pojavnosti kasne sepse, BPD-a i ROP-a, što upućuje na zaključak da pasterizacija nije imala negativan učinak na zaštitnu ulogu majčinog mlijeka.

Prehrana DHM-om u usporedbi s dojenačkom formulom, također značajno smanjuje rizik pojave NEC-a, što dosljedno pokazuje nekoliko recentnih meta-analiza (17, 18, 19). Analiza 11 RCT-a s 1390 nedonoščadi pokazala je da prehrana DHM-om smanjuje incidenciju NEC-a za 33% te trajanje parenteralne prehrane i vrijeme potrebno za postizanje punog enteralnog unosa (17). Cochraneov sustavni pregled uključio je 9 RCT-a s 1675 nedonoščadi gestacijske dobi <32 tjedna i rodne mase <1800 g (18). Rezultati su pokazali da prehrana dojenačkom formulom u usporedbi s DHM-om povećava rizik od pojave NEC-a za gotovo 2 puta (RR 1,87, 95% CI 1,23 – 2,85). Izračunato je da će se jedan novi slučaj NEC-a pojaviti na svakih 33 nedonoščadi koja primaju dojenačku formulu. Kako bi se osigurao odgovarajući kalorijski unos i primjeren rast djeteta, prehrana HM-om uključuje uporabu pojačivača za HM u sve nedonoščadi rodne mase <1500 g, odnosno <1800 g (2, 3). Usporedba primjene pojačivača na bazi humanog mlijeka i kravljeg mlijeka nije pokazala značajnu razliku u stopi NEC-a (20).

Posljednjih se godina velika pozornost pridaje mogućem učinku orofaringealne primjene kolostruma na prevenciju bolesti nedonoščadi. Orofaringealna primjena kolostruma odnosi se na primjenu male količine kolostruma, obično 0,2 – 0,4 ml, u usnu šupljinu djeteta u razmacima 3 – 4 sata prvih nekoliko dana života u cilju imunomodulacije u kontaktu kolostruma s oralnom sluznicom i lokalnim limfatičkim tkivom. Dvije recentne meta-analize pokazale su da orofaringealna primjena kolostruma smanjuje rizik od pojave NEC-a za 49% (21) odnosno 44% (22) u usporedbi s primjenom placeba (sterilne vode) ili ničega.

Uloga bioaktivnih tvari u humanom mlijeku u zaštiti od pojave NEC-a

Mehanizam kojim prehrana majčinim mlijekom smanjuje rizik pojave NEC-a uključuje smanjenje pH želuca, pojačanje pokretljivosti crijeva, pozitivan učinak na crijevnu mikrobiotu kroz antimikrobne, prebiotičke i probiotičke komponente te smanjenje propusnosti crijevnog epitela (23). Među biološki aktivnim tvarima u majčinom mlijeku koje imaju zaštitnu ulogu od pojave NEC-a, navode se IgA, laktoferin, lizozim, faktori rasta, oligosaharidi, glutamin, IL-10, glikozaminoglikani, gangliozidi, dušikov (II) oksid i faktor aktivacije trombocita – acetilhidrolaza (24, 25). Uloga nekih od njih ispitana je i u kliničkim studijama u nedonoščadi.

IgA je najzastupljeniji imunoglobulin u majčinom mlijeku, a nalazi se u obliku sekretornog IgA. Ima važnu ulogu u antimikrobnoj obrani probavnog susta-

va novorođenčeta inhibicijom vezivanja patogena za površine sluznice, neutralizacijom mikrobnih toksina i osiguranjem pasivnog imuniteta. Osim toga, IgA u probavnom sustavu potiče rast bifidobakterija (25). Istraživanje Gopalakrishna i sur. sugerira da je IgA iz majčinog mlijeka ključan čimbenik u prevenciji NEC-a (26). Autori su analizirali vezanje IgA na fekalne bakterije nedonoščadi i utvrdili relativno smanjenje IgA vezanih bakterija te povećanje dominacije *Enterobacteriaceae* u IgA-nevezanom udjelu mikrobiote u nedonoščadi koja su razvila NEC. Ova je promjena bila uočljiva prije početka bolesti.

Laktoferin je glikoprotein koji veže željezo i ima antibakterijsko, antivirusno, protupalno i imunomodulacijsko djelovanje: neutralizira aktivnost endotoksina, sprječava aktivaciju mononukleara i izlučivanje upalnih citokina (IL-6, IL-8, TNF- α , IL-1 β). Laktoferin potiče rast bakterija koje zahtijevaju malo željeza, kao što su laktobacili i bifidobakterije, važne za razvoj zdrave crijevne mikrobiote. Primjena govedeg laktoferina u nedonoščadi nije se pokazala učinkovitom u prevenciji NEC-a (27). TGF β 2 je faktor rasta koji pomaže lokalno povećanje IgA u crijevima (12), a zajedno s EGF-om pospješuje maturaciju mukozne barijere crijevne sluznice. U slini i serumu nedonoščadi s NEC-om nađene su niže razine EGF-a nego u nedonoščadi bez NEC-a (28).

Oligosaharidi majčinog mlijeka (engl. *Human milk oligosaccharides*, HMO) složeni su šećeri s više od 200 frakcija čija je sinteza genetski determinirana. Oni su treća najzastupljenija komponenta u majčinom mlijeku, ali ih dijete ne iskorištava u nutritivne svrhe, već im je uloga u poticanju rasta zdrave crijevne mikrobiote. Naime, bifidobakterije metaboliziraju HMO za svoj rast, osobito *B. infantis* i *B. bifidum*. Osim prebiotičke funkcije, oligosaharidi sprječavaju vezanje patogena poput *E. coli* na mukozne receptore u crijevima te suprimiraju upalu modulacijom ekspresije receptora na površini 4 (engl. *Toll like receptor*, TLR4) čija se prekomjerna stimulacija od Gram-negativnih bakterija smatra jedinim od ključnih pokretača upale u patogenezi NEC-a (25). Pretkliničke studije na životinjama, kao i kliničke studije u ljudi podupiru ulogu HMO-a u smanjenju razvoja NEC-a. U tom smislu posebno se ističe HMO *disialillakto-N-tetraosa* (DSLNT). U mlijeku majki čija su novorođenčad razvila NEC nađena je značajno niža koncentracija DSLNT-a (29, 30). Niska koncentracija DSLNT-a bila je povezana sa značajno nižom relativnom brojnošću *Bifidobacterium longum* i većom brojnošću *Enterobacter cloacae* u stolici nedonoščadi s NEC-om prije nego što su razvila bolest (30). U budućnosti bi se DSLNT u majčinom mlijeku mogao iskoristiti kao neinvazivni biljeg za rizik od razvoja NEC-a (29), a u kliničkoj primjeni DHM-a za najugroženiju nedonoščad trebalo bi razmišljati o primjeni onog mlijeka koje ima visoku koncentraciju DSLNT-a (30). Obje ove potencijalne mogućnosti kliničke primjene

DSLITN-a potrebno je dodatno istražiti. Primjena prebiotika kao što su galaktooligosaharidi (GOS), fruktooligosaharidi (FOS), inulin i laktuloza, imala je malen do nikakav učinak na pojavnost NEC-a u nedonoščadi (31). Važno je napomenuti da su GOS i FOS strukturno i funkcionalno vrlo različiti od oligosaharida koji se nalaze u majčinom mlijeku. Posljednjih godina sintetizirano je pet oligosaharida koji svojim sastavom odgovaraju HMO (2'-fukozil laktoza, 3-fukozil laktoza, lakto-N-tetraoza, 6'-sijalilaktoza, 3'-sijalilaktoza), no u kliničkim studijama njihova uloga u sprečavanju NEC-a nije ispitana.

Glutamin je u prva tri mjeseca laktacije najzastupljenija slobodna aminokiselina u majčinom mlijeku. Blagotvorni učinci glutamina uključuju poticanje rasta crijevnog epitela i poboljšanje funkcije barijere te smanjenje oksidativnog stresa i upale (25). U novorođenčadi sa smanjenom serumskom koncentracijom glutamina i arginina zamijećen je veći rizik od razvoja NEC-a (25). Primjena L-arginina u nedonoščadi bila je povezana sa značajnim smanjenjem rizika od Bellovog stadija 1 NEC-a, ali ne i stadija 2 ili 3 NEC-a (32), dok primjena glutamina nije utjecala na pojavnost NEC-a (33).

Probiotičke bakterije u majčinom mlijeku iz roda *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* također imaju potencijalnu ulogu u zaštiti od NEC-a. Poznato je da je većina učinaka probiotičkih bakterija specifična za soj. Meta-analiza 45 studija koje su uključile 12 320 ispitanika pokazala je da je primjena probiotika koji su uključivali kombinaciju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* bila povezana s nižim stopama smrtnosti (RR 0,56; 95% CI 0,34 – 0,84) i obolijevanja od NEC-a (RR 0,47; 0,27 – 0,79) u usporedbi s placebom. Ovaj učinak nije bio izražen uz primjenu samo jednog soja probiotičke bakterije, ni uz primjenu drugih rodova probiotičkih bakterija (34).

Humano mlijeko u prevenciji bronhopulmonalne displazije

Bronhopulmonalna displazija (BPD) bolest je pluća nedonoščadi definirana potrebom za kisikom u 36. tjednu postmenstrualne dobi. Kategorizira se kao blaga, umjereno teška ili teška BPD, na temelju razine potrebne respiratorne potpore. Oksidativni stres zbog izloženosti pluća hiperoksiji najčešći je rizični čimbenik za pojavu BPD-a, stoga bi antioksidativna terapija, uključujući antioksidanse iz majčinog mlijeka, mogla biti učinkovit način prevencije ozljede pluća u nedonoščadi (35).

Prema rezultatima mnogih opservacijskih studija, prehrana HM-om ima pozitivan učinak u sprječavanju BPD-a. I ovdje je, slično kao za NEC, učinak HM-a na pojavnost BPD-a ovisan o dozi (14, 36). Multicentrična studija koja je retrospektivno analizirala podatke za 964 nedonoščadi GD \leq 34 tj. i RM $<$ 1500 g pokazala je da su nedonoščad koja su u prva 4 tjedna života primala \geq 50 ml/kg dnevno HM imala manje šanse za po-

javnost BPD-a (AOR 0,45; 95% CI 0,31– 0,67) te pojavnost umjereno teške i teške BPD (AOR 0,43; 95% CI: 0,25 – 0,74) (36). Dvije recentne meta-analize opservacijskih studija utvrdile su jasan zaštitni učinak primjene HM-a na pojavnost BPD-a, dok je analiza RCT-a pokazala trend zaštitnog učinka, ali bez statističke značajnosti (14, 37). Villamor-Martínez i sur. proučili su učinak prehrane isključivo MVM-om, MVM-om uz dodatak formule za nedonoščad i prehrane isključivo formulom za nedonoščad na pojavnost BPD-a (38). To je jedina do sada objavljena meta-analiza koja je proučavala učinak primjene samo MVM-a bez dodatka DHM-a. Analizom pet opservacijskih studija nađeno je da prehrana isključivo MVM-om smanjuje rizik pojavnosti BPD-a za 26%.

Prehrana DHM-om, u usporedbi s formulom za nedonoščad, također značajno smanjuje rizik pojavnosti BPD-a (za 22%, meta-analiza 8 opservacijskih studija), ali ovaj nalaz nije potvrđen analizom RCT-a (39). Nije nađena razlika u pojavnosti BPD-a pri prehrani svježim majčinim mlijekom u usporedbi s pasteriziranim mlijekom (14), što još jednom potvrđuje važnost primjene DHM-a onda kada MVM nije dostupan.

Na temelju navedenih istraživanja može se zaključiti da prehrana HM-om vjerojatno sprječava pojavu BPD-a budući da je takav učinak jasno potvrđen u opservacijskim studijama, ali ne i u RCT-u.

Uloga bioaktivnih tvari u majčinom mlijeku u zaštiti od pojave BPD-a

Majčino mlijeko ima visok antioksidativni kapacitet, što je jedna od značajnih dobrobiti za zdravlje nedonoščadi. Antioksidansi majčina mlijeka koji bi mogli imati zaštitnu ulogu u razvoju BPD-a jesu glutathion (GSH), superoksid dismutaza (SOD), glutathion peroksidaza (GSH-Px), vitamini, fitokemikalije, melatonin, elementi u tragovima, kratkolančane masne kiseline, oligosaharidi i laktoferin, a dodatnu zaštitnu ulogu mogle bi imati i probiotičke bakterije (40). Za neke od ovih tvari uloga u prevenciji BPD-a ispitana je u kliničkim studijama. Primjerice, poznato je da je selen nužan za održavanje aktivnosti GSH-Px. Dodatak selena u prehrani nedonoščadi može poboljšati njihovu prognozu BPD-a, ali ne sprječava BPD (41). Rezultati meta-analiza pokazali su da primjena vitamina A u nedonoščadi smanjuje rizik od BPD-a (42, 43). Dodatak vitamina E u prehranu nedonoščadi također ima preventivni učinak na BPD (44), dok se primjena laktoferina nije pokazala učinkovitom (45). Treba imati na umu da je majčino mlijeko biološki aktivna tekućina složenog i dinamičnog sastava čiji mehanizam međudjelovanja bioaktivnih tvari nije sasvim razjašnjen. Stoga primjena pojedinačnih bioaktivnih tvari u cilju sprječavanja bolesti ne mora imati pozitivan učinak. Tek se primjenom cjelovitog „eliksira“ majčinog mlijeka, sa svom njegovom složenosti i međudjelovanjima tvari, može postići dobrobit za zdravlje.

Antioksidativni kapacitet probiotičkih bakterija odnosi se na njihovo djelovanje u uklanjanju reaktivnih slobodnih radikala, oslobađanju antioksidativnih enzima kao što su SOD i GSH (u čemu osobito obiluju laktobacili i bifidobakterije) te modulaciji antioksidativnih signalnih putova (40). Pitanje utjecaja HM-a na mikrobiom dišnog sustava nedonoščadi nije razjašnjeno. Istraživanja oralne primjene kolostruma posljednjih godina sugeriraju da HM može formirati zaštitni sloj dišnog zida i biti prva linija obrane smanjujući orofaringealne patogene u ventilirane novorođenčadi. To je važno jer kolostrum ima veći antioksidativni kapacitet od zrelog mlijeka te u ranom poslijeporođajnom razdoblju može pomoći u prelasku iz intrauterine hipoksije do ekstrauterine hiperoksije i poboljšanju antioksidativnog sustava (40). Pokazalo se da orofaringealna primjena kolostruma smanjuje rizik od pojave ventilatorom uvjetovane pnemonije (21), ali ne i rizik od pojave BPD-a (21, 22).

Humano mlijeko u prevenciji retinopatije nedonoščadi

Retinopatija nedonoščadi (ROP) obuhvaća vazoproliferativne promjene na mrežnici, koje nastaju kao posljedica prijevremenog rođenja, zbog kojeg dolazi do prekida normalnog razvoja krvnih žila mrežnice. Glavni rizični čimbenici za razvoj ROP-a su gestacijska dob <32 tjedna i VNRM, primjena terapije kisikom u fazi rane neonatalne skrbi te poremećaj postnatalnog razvoja sa smanjenim lučenjem IGF-1 (46). Terapija uključuje primjenu laserske fotokoagulacije i blokatora vaskularnog endotelijalnog faktora rasta, VEGF (engl. *vascular endothelial growth factor*).

Rezultati meta-analize Bharwani i sur. pokazali su da primjena bilo koje količine HM-a, u usporedbi s dojenačkom formulom, smanjuje incidenciju ROP-a i teškog oblika ROP-a (47). Prema ovoj analizi, kako bi se spriječila pojava jednog novog slučaja ROP-a i teškog ROP-a u nedonoščadi VNRM, 11 odnosno 33 nedonoščadi treba biti hranjeno HM-om u bilo kojoj količini. Slično su utvrdili i Raghuvier i Zackula za skupinu izrazito nezrele nedonoščadi koja su imala 69% manju šansu za razvoj ROP-a kada su bila hranjena HM-om u usporedbi s dojenačkom formulom (46). Meta-analiza Miller i sur. pokazala je o dozi ovisan učinak primjene HM u sprječavanju ROP-a (14). Nije uočena razlika u učestalosti teškog oblika ROP-a uz primjenu DHM-a u usporedbi s MVM-om (14).

Potrebno je istaknuti da se zaključci o učinku prehrane HM-om u prevenciji ROP-a temelje na rezultatima analiza opservacijskih studija, kao što je to slučaj i za BPD i kasnu sepsu. Opservacijske studije nemaju snagu dokaza kao RCT-i. Za dokaz kauzaliteta potrebne su randomizirane studije, koje, kada je riječ o prehrani majčinim mlijekom, nisu prihvatljive iz etičkih razloga.

Stoga je većina studija u ovom istraživačkom području opažajna, pri čemu dobiveni rezultati upućuju na povezanost prehrane HM-om i određene bolesti, ali ne potvrđuju kauzalitet. Ipak, u slučaju ROP-a (kao i u slučaju BPD-a i NEC-a), opservacijske studije jasno pokazuju dobiti prehrane HM-om u prevenciji bolesti.

Uloga bioaktivnih tvari u majčinom mlijeku u zaštiti od pojave ROP-a

Bioaktivni čimbenici u majčinom mlijeku koji bi mogli pomoći u sprječavanju ROP-a uključuju karotenoide, retinol, α - i γ - tokoferol, glutation, SOD, GSH-Px, katalazu, VEGF, IGF-1 te omega-3 i omega-6 LCPUFA (8). Poznato je da je dokosaheksaenoična kiselina (DHA, omega-3 LCPUFA) ključna za razvoj mrežnice oka. Većina DHA nakuplja se u razdoblju brzog rasta tijekom trećeg tromjesečja trudnoće. Ovaj transplacentalni prijenos DHA prekinut je prijevremenim porodom. Nakon rođenja, budući da se DHA ne može sintetizirati *de novo*, dijete ju mora unijeti hranom – majčinim mlijekom. Randomizirana klinička studija u nedonoščadi VNRM pokazala je da enteralna primjena DHA tijekom prva 2 tjedna života smanjuje rizik od pojave stadija 3 ROP-a (48).

Humano mlijeko u prevenciji kasne sepse

Neonatalna sepsa je teška infekcija novorođenčadi koju karakterizira prisutnost bakterija, gljivica ili virusa u krvi. Kasna sepsa javlja se nakon 72 sata života. Procjenjuje se da oko 21% nedonoščadi VNRM razvije najmanje jednu epizodu kasne sepse potvrđenu hemokulturom, s visokom stopom mortaliteta i teškog morbiditeta, uključujući loše neurorazvojne ishode (49).

Rezultati meta-analiza koje su proučavale učinak primjene majčinog mlijeka na prevenciju kasne sepse temelje se na analizi opservacijskih studija i nisu konzistentni. Prema meta-analizi Strobel i sur., primjena MVM-a u usporedbi s dojenačkom formulom nije imala učinak na prevenciju kasne sepse (15), dok su Miller i sur. utvrdili smanjenje pojavnosti sepse pri prehrani isključivo HM-om u usporedbi s isključivo dojenačkom formulom te nižu incidenciju sepse uz veći unos HM-a (učinak ovisan o dozi) (14). Randomizirana studija Cossey i sur. koja je ispitala učinak primjene svježeg i pasteriziranog MVM-a, pokazala je da dnevno povećanje unosa majčinog mlijeka u dozi od 10 ml/kg TT smanjuje rizik od pojave sepse za 12% (16). Ovaj je učinak bio izražen neovisno o tomu je li nedonoščad primala svježe ili pasterizirano majčino mlijeko. Primjena DHM-a nije se pokazala učinkovitom u prevenciji kasne sepse u usporedbi s dojenačkom formulom na temelju meta-analize 7 RCT (19).

Općenito, rezultati istraživanja o dobiti primjene HM-a u prevenciji sepse nedonoščadi nisu uvjerljivi. Međutim, orofaringealna primjena kolostruma u dvije

se recentne meta-analize, s 11 i 16 RCT-ova, pokazala učinkovitom u prevenciji kasne sepse, sa smanjenjem pojavnosti za 25% (21, 22).

Uloga bioaktivnih tvari u majčinu mlijeku u zaštiti od pojave kasne sepse

U majčinu mlijeku nalazi se mnoštvo bioaktivnih tvari s potencijalno zaštitnim učinkom na pojavnost sepse u nedonoščadi. Učinak primjene nekih od tih tvari, kao što su laktoferin, HMO, glutamin i selen, ispitan je u kliničkim studijama. Meta-analize RCT-ova pokazale su da dodatak laktoferina enteralnoj prehrani smanjuje pojavnost kasne sepse za 12% (27), a dodatak glutamina za 24% (33). Primjena prebiotika GOS-a, FOS-a, inulina ili laktuloze imala je malen do nikakav učinak na pojavnost kasne sepse (31). Primjena probiotičkih bakterija, prema meta-analizi 25 studija, smanjuje pojavnost kasne sepse za 25%, ali samo kod nedonoščadi hranjene isključivo HM-om i to kada se primjenjuje mješavina probiotičkih sojeva (50).

Zaključak

Prehrana nedonoščadi majčinim mlijekom i/ili DHM-om dokazano štiti od pojave NEC-a te je povezana sa znatno manjim rizikom od pojave BPD-a i ROP-a. U prevenciji ovih bolesti prehrana bilo kojom količinom HM-a bolja je od prehrane dojenačkom formulom, a neke studije pokazuju da je zaštitna uloga HM-a to veća što je veća količina mlijeka koju je nedonošče primilo. Učinak HM-a na prevenciju kasne sepse nije dosljedan, no orofaringealna primjena kolostruma pokazala se učinkovitom u prevenciji kasne sepse i NEC-a, zbog čega je primjena majčina mlijeka od prvoga dana života iznimno važna kako bi se u cijelosti iskoristio njegov zaštitni potencijal. Novije znanstvene spoznaje dovele su do boljeg razumijevanja uloge pojedinih biološki aktivnih komponenti majčina mlijeka u prevenciji bolesti nedonoščadi. Međutim, tek se primjenom cjelovitog „eliksira“ majčinog mlijeka, sa svom složenosti njegova sastava i međudjelovanjima tvari, može postići znatne dobrobiti za zdravlje. Sve navedeno podržava činjenicu da je HM za nedonoščađ i hrana i preventivni terapijski lijek. U tome je smislu jedna od ključnih zadaća suvremene neonatalne skrbi – zalagati se i osigurati prehranu HM-om u sve nedonoščadi.

LITERATURA

1. WHO recommendations for care of the preterm or low birth weight infant. Geneva: WHO; 2022.
2. American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and use of human milk. *Pediatrics* 2012;129:e827–e841.
3. ESPGHAN Committee on Nutrition, Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C *i sur*. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57(4):535-42.
4. Pavičić Bošnjak A. Podrška dojenju u jedinicama intenzivne neonatalne skrbi: koraci i izazovi. *Paediatr Croat.* 2018;62 (Suppl 1):66-72.
5. Wilson E, Edstedt Bonamy AK, Bonnet M, Toome L, Rodrigues C, Howell EA *i sur*. Room for improvement in breast milk feeding after very preterm birth in Europe: Results from the EPICE cohort. *Matern Child Nutr.* 2018;14(1):e12485. doi: 10.1111/mcn.12485.
6. Williams T, Nair H, Simpson J, Embleton N. Use of Donor Human Milk and Maternal Breastfeeding Rates: A Systematic Review. *J Hum Lact.* 2016;32(2):212-20. doi: 10.1177/0890 334416632203.
7. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(1): 49-74. doi: 10.1016/j.pcl.2012.10.002.
8. Gila-Diaz A, Arribas SM, Algara A, Martín-Cabrejas MA, López de Pablo ÁL, Sáenz de Pipaón M *i sur*. A Review of Bioactive Factors in Human Breastmilk: A Focus on Prematurity. *Nutrients.* 2019;11(6):1307. doi: 10.3390/nu11061307.
9. Jiang X, You L, Zhang Z, Cui X, Zhong H, Sun X *i sur*. Biological Properties of Milk-Derived Extracellular Vesicles and Their Physiological Functions in Infant. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:693534. doi: 10.3389/fcell.2021.693534.
10. Peila C, Moro GE, Bertino E, Cavallarin L, Giribaldi M, Giuliani F *i sur*. The Effect of Holder Pasteurization on Nutrients and Biologically-Active Components in Donor Human Milk: A Review. *Nutrients.* 2016;8(8):477. doi: 10.3390/nu8080477.
11. Riskin A. Immunomodulatory Constituents of Human Donor Milk. *Breastfeed Med.* 2020 ;15(9):563-567. doi: 10.1089/ bfm.2020.0192.
12. Singh DK, Miller CM, Orgel KA, Dave M, Mackay S, Good M. Necrotizing enterocolitis: Bench to bedside approaches and advancing our understanding of disease pathogenesis. *Front Pediatr.* 2023;10:1107404. doi: 10.3389/fped.2022.1107404.
13. Altobelli E, Angeletti PM, Verrotti A, Petrocelli R. The Impact of Human Milk on Necrotizing Enterocolitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2020;12(5):1322. doi: 10.3390/nu12051322.
14. Miller J, Tonkin E, Damarell RA, McPhee AJ, Suganuma M, Suganuma H *i sur*. A Systematic Review and Meta-Analysis of Human Milk Feeding and Morbidity in Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients.* 2018;10(6):707. doi: 10.3390/nu10 060707.
15. Strobel NA, Adams C, McAullay DR, Edmond KM. Mother's Own Milk Compared With Formula Milk for Feeding Preterm or Low Birth Weight Infants: Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatrics.* 2022;150(Suppl 1):e2022057092D. doi: 10.1542/peds.2022-057092D.
16. Cossey V, Vanhole C, Eerdekens A, Rayyan M, Fieuws S, Schuermans A. Pasteurization of mother's own milk for preterm infants does not reduce the incidence of late-onset sepsis. *Neonatology.* 2013;103: 170–6.
17. Li Y, Chi C, Li C, Song J, Song Z, Wang W *i sur*. Efficacy of Donated Milk in Early Nutrition of Preterm Infants: A Meta-Analysis. *Nutrients.* 2022;14(9):1724. doi: 10.3390/nu 14091724.
18. 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(7):CD002971. doi: 10. 1002/14651858.CD002971.
19. Yu F, Cao B, Wen Z, Li M, Chen H, Xie G. Is Donated Breast Milk Better Than Formula for Feeding Very Low Birth Weight Infants? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Worldviews Evid Based Nurs.* 2019 ;16(6):485-94. doi: 10.1111/ wvn.12410.

20. Premkumar MH, Pammi M, Suresh G. Human milk-derived fortifier versus bovine milk-derived fortifier for prevention of mortality and morbidity in preterm neonates. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;2019(11):CD013145. doi: 10.1002/14651858.CD013145.pub2
21. Huo M, Liu C, Mei H, Zhang Y, Liu C, Song D i sur. Intervention Effect of Oropharyngeal Administration of Colostrum in Preterm Infants: A Meta-Analysis. *Front Pediatr.* 2022;10:895375. doi: 10.3389/fped.2022.895375.)
22. Fu ZY, Huang C, Lei L, Chen LC, Wei LJ, Zhou J i sur. The effect of oropharyngeal colostrum administration on the clinical outcomes of premature infants: A meta-analysis. *Int J Nurs Stud.* 2023;144:104527. doi: 10.1016/j.ijnurstu.2023.104527.
23. Maffei D, Schanler RJ. Human milk is the feeding strategy to prevent necrotizing enterocolitis! *Semin Perinatol.* 2017;41(1):36-40. doi: 10.1053/j.semperi.2016.09.016.
24. Nolan LS, Rimer JM, Good M. The Role of Human Milk Oligosaccharides and Probiotics on the Neonatal Microbiome and Risk of Necrotizing Enterocolitis: A Narrative Review. *Nutrients.* 2020;12(10):3052. doi: 10.3390/nu12103052.
25. Sami AS, Frazer LC, Miller CM, Singh DK, Clodfelter LG, Orgel KA i sur. The role of human milk nutrients in preventing necrotizing enterocolitis. *Front Pediatr.* 2023;11:1188050. doi: 10.3389/fped.2023.1188050.
26. Gopalakrishna KP, Macadangdang BR, Rogers MB, Tometich JT, Firek BA, Baker R i sur. Maternal IgA protects against the development of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Nat Med.* 2019;25(7):1110-5. doi: 10.1038/s41591-019-0480-9.
27. Pammi M, Suresh G. Enteral lactoferrin supplementation for prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;3(3):CD007137. doi: 10.1002/14651858.CD007137
28. Warner BB, Ryan AL, Seeger K, Leonard AC, Erwin CR, Warner BW. Ontogeny of salivary epidermal growth factor and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr.* 2007;150(4):358-63. doi: 10.1016/j.jpeds.2006.11.059.
29. Autran CA, Kellman BP, Kim JH, Asztalos E, Blood AB, Spence ECH i sur. Human milk oligosaccharide composition predicts risk of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Gut.* 2018;67(6):1064-70. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312819.
30. Masi AC, Embleton ND, Lamb CA, Young G, Granger CL, Najera J i sur. Human milk oligosaccharide DSLNT and gut microbiome in preterm infants predicts necrotising enterocolitis. *Gut.* 2021;70:2273–82. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322771
31. Sharif S, Oddie SJ, Heath PT, McGuire W. Probiotics to prevent necrotising enterocolitis in very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2023;6(6):CD015133. doi: 10.1002/14651858.CD015133.pub2.
32. Shah PS, Shah VS, Kelly LE. Arginine supplementation for prevention of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;4(4):CD004339. doi: 10.1002/14651858.CD004339.pub4
33. Moe-Byrne T, Brown JV, McGuire W. Glutamine supplementation to prevent morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;4(4):CD001457. doi: 10.1002/14651858.CD001457.pub6.
34. Chi C, Li C, Buys N, Wang W, Yin C, Sun J. Effects of Probiotics in Preterm Infants: A Network Meta-analysis. *Pediatrics.* 2021;147(1):e20200706
35. Yang X, Jiang S, Deng X, Luo Z, Chen A, Yu R. Effects of Antioxidants in Human Milk on Bronchopulmonary Dysplasia Prevention and Treatment: A Review. *Front Nutr.* 2022;9:924036. doi: 10.3389/fnut.2022.924036.
36. Xu Y, Yu Z, Li Q, Zhou J, Yin X, Ma Y i sur. Dose-dependent effect of human milk on Bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants. *BMC Pediatr.* 2020;20(1):522. doi: 10.1186/s12887-020-02394-1.
37. Huang J, Zhang L, Tang J, Shi J, Qu Y, Xiong T i sur. Human milk as a protective factor for bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal.* 2019;104:F128–36. doi: 10.1136/archdischild-2017-314205
38. Villamor-Martínez E, Pierro M, Cavallaro G, Mosca F, Villamor E. Mother's own milk and bronchopulmonary dysplasia: A systematic review and meta-analysis. *Front Pediatr.* 2019;7:224. doi: 10.3389/fped.2019.00224.
39. Villamor-Martínez E, Pierro M, Cavallaro G, Mosca F, Kramer BW, Villamor E. Donor Human Milk Protects against Bronchopulmonary Dysplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2018;10(2):238. doi: 10.3390/nu10020238.
40. Yang X, Jiang S, Deng X, Luo Z, Chen A, Yu R. Effects of Antioxidants in Human Milk on Bronchopulmonary Dysplasia Prevention and Treatment: A Review. *Front Nutr.* 2022;9:924036. doi: 10.3389/fnut.2022.924036.
41. Staples S, Wall SB Li R, Tipple TE. Selenium-independent antioxidant and anti-inflammatory effects of thioredoxin reductase inhibition in alveolar macrophages. *Life Sci.* 2020;259:118285. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118285
42. Ding Y, Chen Z, Lu Y. Vitamin a supplementation prevents the bronchopulmonary dysplasia in premature infants: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2021;100:e23101. doi: 10.1097/MD.00000000000023101
43. Abiramalatha T, Ramaswamy VV, Bandyopadhyay T, Somanath SH, Shaik NB, Pullattayil AK i sur. Interventions to prevent bronchopulmonary dysplasia in preterm neonates: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *JAMA Pediatr.* 2022;176:502–16. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.6619
44. Uberos J, Jimenez-Montilla S, Molina-Oya M, Nieto-Gomez P, Millan IC. Morbidity outcomes of very low birth weight neonates receiving parenteral nutrition with fish oil enriched lipid emulsion or lipid emulsion with soybean oil: an observational study. *Am J Perinatol.* 2021;38:952–9. doi: 10.1055/s-0039-1701026
45. Dobryk D, Dobryk O, Dobryansky D. The effect of enteral lactoferrin supplementation in prevention of morbidity associated with immature digestive tract in premature infants: prospective cohort study. *Georgian Med News.* 2022;323:94–101.
46. Raghuvver TS, Zackula R. Strategies to Prevent Severe Retinopathy of Prematurity: A 2020 Update and Meta-analysis. *Neoreviews.* 2020;21(4):e249-e263. doi: 10.1542/neo.21-4-e249.
47. Bharwani SK, Green BF, Pezzullo JC, Bharwani SS, Bharwani SS, Dhanireddy R. Systematic review and meta-analysis of human milk intake and retinopathy of prematurity: a significant update. *J Perinatol.* 2016;36(11):913–20.
48. Bernabe-García M, Villegas-Silva R, Villavicencio-Torres A, Calder PC, Rodriguez-Cruz M, Maldonado-Hernández J i sur. Enteral Docosahexaenoic Acid and Retinopathy of Prematurity: A Randomized Clinical Trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2019;43(7):874-82. doi: 10.1002/jpen.1497.
49. Camacho-Gonzalez A, Spearman PW, Stoll BJ. Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(2):367-89. doi: 10.1016/j.pcl.2012.12.003.
50. Aceti A, Maggio L, Beghetti I, Gori D, Barone G, Callegari ML i sur. Probiotics Prevent Late-Onset Sepsis in Human Milk-Fed, Very Low Birth Weight Preterm Infants: Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2017;9(8):904. doi: 10.3390/nu9080904.