

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ ΘΕΜΑ :

**ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΝΕΟΓΝΩΝ ΚΑΙ ΕΝΗΛΙΚΩΝ
ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΩΝ
ΣΤΗΝ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΝΤΕΡΙΚΗ
ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΩΝ
(ΑΝΑΦΟΡΑ ΣΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ
ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΟ ΤΕΣΤ ΛΑΚΤΟΥΛΟΖΗΣ / MANNITΟΛΗΣ)**



Ονοματεπώνυμο φοιτητή : Μπίζιου Μαρία

A.M 9923

**Επιβλέπουσα Καθηγήτρια :
κ. Σκουρολιάκου Μαρία**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :
κ. Ανδρικόπουλος Ν.
κ. Κυριακού Μ.
κ. Σκουρολιάκου Μ.**

ΑΘΗΝΑ 2004

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ – ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ.....	3
2.1 Ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας.....	4
2.2 Μεταβολική δραστηριότητα της εντερικής μικροχλωρίδας.....	7
2.3 Αντίσταση στον αποικισμό παθογόνων.....	12
2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τον βακτηριακό αποικισμό του εντέρου..	13
I. Εξωγενείς Παράγοντες Αποίκησης.....	14
II.Ενδογενείς Παράγοντες Αποίκησης.....	14
3. ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ : ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ.....	15
3.1 Προβιοτικά ως βιοθεραπευτικοί παράγοντες.....	17
I . Μείωση της δυσανοχής στην λακτόζη.....	17
II . Διαρροϊκές κενώσεις σχετιζόμενες με την λήψη αντιβιοτικών.....	18
III . Γαστρεντερίτιδα.....	18
IV . Υπέρμετρη βακτηριακή ανάπτυξη.....	20
V . Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου.....	20
VI . Μείωση αλλεργικών αντιδράσεων.....	21
VII. Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου.....	24
VIII.Καρκίνος του παχέος εντέρου.....	24
IX . Ταξιδιωτική διάρροια.....	25
X . Μόλυνση από <i>Helicobacter pylori</i>	26
XI . Ιικές μολύνσεις.....	26
XII. Υποχοληστεριναιμικά αποτελέσματα.....	27
XIII.Ηπατικές νόσοι.....	28
4. ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΑ : ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ.....	29
4.1 Φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες.....	30
4.2 Ινουλίνες.....	30
4.3 Ισομαλτο-ολιγοσακχαρίτες.....	30
4.4 Λακτιτόλη.....	31
4.5 Λακτοσουκρόζη.....	31

4.6	Λακτουλόζη.....	31
4.7	Πυροδεξτρίνες.....	32
4.8	Ολιγοσακχαρίτες σόγιας.....	32
4.9	Τρανσ-γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες.....	32
4.10	Ξυλο-ολιγοσακχαρίτες.....	32
4.11	Πρεβιοτικά ως βιοθεραπευτικοί παράγοντες.....	33
I .	Ευεργετική επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα.....	33
II .	Επίδραση στην απορρόφηση μετάλλων.....	33
III.	Επίδραση στον μεταβολισμό λιπιδίων.....	36
IV.	Ανακούφιση από την δυσκοιλιότητα.....	38
V .	Αντιμετώπιση της διάρροιας, ιδιαίτερα όταν σχετίζεται με εντερικές λοιμώξεις.....	38
VI.	Μείωση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης.....	38
VII.	Μείωση του κινδύνου εμφάνισης αθηροσκληρωτικών καρδιαγγειακών νοσημάτων.....	39
VIII.	Μείωση του κινδύνου εμφάνισης παχυσαρκίας και ΣΔ τύπου II....	39
IX .	Πιθανή αντικαρκινική δραστηριότητα.....	39
5.	ΣΥΣΤΑΣΗ ΜΗΤΡΙΚΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	42
5.1	Οφέλη του μητρικού γάλακτος στην υγεία και την γενικότερη κατάσταση του νεογνού.....	45
	Gαστρεντερικό	
	<u>σύστημα.....</u>	46
II .	Νοσηρότητα.....	48
III .	Χρόνιες ασθένειες.....	49
IV .	Ρυθμός ανάπτυξης.....	50
6.	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΟΥΡΙΚΗΣ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗΣ ΛΑΚΤΟΥΛΟΖΗΣ – MANNITOLΗΣ.....	52
6.1	Συνθήκες ανάλυσης HPLC.....	55
6.2	Προετοιμασία των δειγμάτων για την εκτίμηση της εντερικής διαπερατότητας με την μέθοδο μέτρησης της ουρικής απέκκρισης λακτουλόζης / μαννιτόλης.....	56
6.3	Χαρακτηριστικά παραδείγματα ερευνών όπου έγινε χρήση της μεθόδου μέτρησης της ουρικής απέκκρισης λακτουλόζης / μαννιτόλης.....	57

7. ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΗ ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ.....	61
7.1 Παραδοσιακά και εμπλουτισμένα τρόφιμα με προβιοτικά.....	62
7.2 Φαρμακευτικά σκευάσματα με προβιοτικά.....	66
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στον ανθρώπινο εντερικό σωλήνα υπάρχει μια τεράστια και πολυποίκιλη σειρά βακτηριακών ειδών, που σε αριθμό αγγίζει τα 10^{14} βακτηριακά κύτταρα. Αυτή η μικροβιακή χλωρίδα παίζει έναν αξιοσημείωτο ρόλο στις διαδικασίες που επιτελούνται στον γαστρεντερικό σωλήνα και χωρίς την ύπαρξή της η διαβίωση του ανθρώπινου οργανισμού θα ήταν αδύνατη.

Σε σύγκριση με άλλες περιοχές του γαστρεντερικού σωλήνα, το παχύ έντερο αποτελεί ένα ιδιαίτερα πυκνό, σε μικροβιακό πληθυσμό οικοσύστημα. Η μικροβιακή αποίκιση ξεκινάει μετά την γέννηση του βρέφους. Η ανάπτυξη όμως της μικροβιακής χλωρίδας καθώς και του εντερικού φραγμού είναι μια συνεχής διαδικασία που συνεχίζεται και μετά την γέννηση. Έτσι, ο εντερικός φραγμός των νεογνών, και ιδιαίτερα των πρόωρων, αμέσως μετά την γέννηση είναι ατελής και αρχίζει να αναπτύσσεται μέχρι και την βρεφική ηλικία, χρησιμοποιώντας πρωταρχικά την μητρική εντερική χλωρίδα ως δεξαμενή βακτηρίων για τον αποικισμό του.

Συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί αυτού του οικοσυστήματος, κατέχουν παθογόνες ιδιότητες και εικάζεται πως ενέχονται σε παθολογικές καταστάσεις όπως η γαστρεντερίτιδα, καθώς και άλλες πιο χρόνιες, όπως η ελκώδης κολίτιδα και ο καρκίνος του παχέως εντέρου, ενώ άλλοι μικροοργανισμοί, όπως συγκεκριμένα στελέχη *Bifidobacteria* και *Lactobacillus*, πιστεύεται πως κατέχουν ευεργετικές ιδιότητες για τον ανθρώπινο οργανισμό, όπως η μείωση της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων, η βελτίωση της δυσανεξίας στην λακτόζη, η προαγωγή ανοσοποιητικών παραμέτρων και ίσως η πρόληψη και καταστολή της ανάπτυξης όγκων.

Το γαστρεντερικό σύστημα των νεογνών εμβολιάζεται πρώτιστα από τους οργανισμούς που προέρχονται από τον κόλπο και τα περιττώματα της μητέρας καθώς επίσης και από το άμεσο περιβάλλον τους, ενώ η εντερική διαπερατότητα σχετίζεται άμεσα με την σύνθεση της μικροχλωρίδας του παχέως εντέρου, για την βελίωση της οποίας υπάρχουν σήμερα δύο κύριες προσεγγίσεις : τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά σκευάσματα.

Τα προβιοτικά αναφέρονται σε πολύ συγκεκριμένα, ζωντανά στελέχη βακτηριακών ειδών που προστίθενται στην διατροφή. Σημαντικό γεγονός στην απόδοση ταυτότητας στα προβιοτικά, είναι αυτό του καθορισμού τους, όχι απλά του είδους των βακτηρίων, αλλά και του συγκεκριμένου στελέχους, που απεδειγμένα : α) επιβιώνει αναλλοίωτο στο παχύ έντερο και συμβάλλει στην ισορροπία της μικροχλωρίδας, ενώ παράλληλα αντιστέκεται στον αποικισμό παθογόνων και β) προάγει, μέσω συγκεκριμένων ανοσορυθμιστικών μηχανισμών, την λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Ιδιαίτερα για τα νεογνά τα προβιοτικά πρέπει : α) να προωθούν την απορρόφηση και βιοδιαθεσιμότητα των διατροφικών συστατικών, β) να ανακουφίζουν τα συμπτώματα δυσανοχής στην λακτόζη και γ) να προωθούν την ανάπτυξη.

Στη νεογνολογία, τα προβιοτικά συμπληρώματα χρησιμοποιούνται κυρίως για την σταθεροποίηση της εντερικής χλωρίδας, την αντιμετώπιση διαρροικών κενώσεων και την αύξηση του σωματικού βάρους κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης, ενώ η επιλογή τους γίνεται με κριτήριο τον χρόνο επιβίωσής τους στο γαστρεντερικό σύστημα, την παραμονή τους στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, την παραγωγή αντιμικροβιακών παραγόντων έναντι παθογόνων, τον μικρό χρόνο πολλαπλασιασμού τους και την ικανότητα τους να σταθεροποιούν την εντερική χλωρίδα.

Στην έρευνα για την ταυτοποίηση και δράση των προβιοτικών έχουν διερευνηθεί μέχρι σήμερα πολλά είδη μικροοργανισμών, με επικρατέστερα τα βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ.

Ως πρεβιοτικό καθορίζεται κάθε άπεπτο διατροφικό στοιχείο, που επηρεάζει ευεργετικά τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου, με το να προάγει επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και την δράση ενός ή μιας ομάδας βακτηρίων, τα οποία αποδεδειγμένα βελτιώνουν την υγεία του οργανισμού. Στις μέρες μας, τα περισσότερα πρεβιοτικά καθορίζονται με βάση την δυνατότητα που έχουν στο να προάγουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών της εντερικής χλωρίδας, που παράγουν γαλακτικό οξύ. Τα πιο συχνά πρεβιοτικά είναι οι ολιγοσακχαρίτες της φρουκτόζης και της γαλακτόζης, η λακτουλόζη, ενώ τα τελευταία χρόνια στο μικροσκόπιο των ερευνητών βρίσκονται και οι ολιγοσακχαρίτες της σόγιας. Μια από τις επιδράσεις των πρεβιοτικών που ερευνάται εκτενώς σήμερα είναι αυτή στο λιπιδαιμικό προφίλ του ανθρώπου, με αντικρουόμενα, μέχρις στιγμής, αποτελέσματα.

Στα βρέφη, η πιο σημαντική επίδραση των πρεβιοτικών είναι να προλαμβάνει μολύνσεις του γαστρεντερικού συστήματος. Αυτό επιτυγχάνεται από διάφορους μηχανισμούς, όπως η δράση των bifido – βακτηρίων έναντι των παθογόνων για τους υποδοχείς και τα υποστρώματα του εντέρου, τη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος, την εξασθένιση της ανάπτυξης των παθογόνων με την διέγερση παραγωγής λιπαρών οξέων κοντής αλυσίδας, γαλακτικών οξέων και αντιμικροβιακών παραγόντων. Έτσι λοιπόν, η εισαγωγή των πρεβιοτικών στις φόρμουλες βρεφικής σίτισης αποτελεί άλλη μια πρόκληση επιστημονικών συζητήσεων, για τα πιθανά οφέλη που μπορεί να κατέχει μια τέτοιου είδους παρέμβαση.

2. ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ – ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ

Ο γαστρεντερικός σωλήνας είναι ένας εξειδικευμένος λειτουργικά σωλήνας που αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό σαφώς διακεκριμένων ανατομικών περιοχών. Η υπάρχουσα φυσική μικροχλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος διαφέρει σημαντικά από περιοχή σε περιοχή. Έτσι το στομάχι και το λεπτό έντερο αποικίζονται από ένα σχετικά μικρό αριθμό βακτηριακών πληθυσμών (πιθανότατα λόγω του όξινου pH και του μικρού χρόνου διέλευσης της πεπτούμενης τροφής διαμέσου αυτών) σε αντίθεση με το παχύ έντερο στο οποίο βρίσκεται εγκατεστημένος ένας εκπληκτικά μεγάλος αριθμός βακτηριακού φορτίου (4, 15, 16).

Η εντερική μικροχλωρίδα αντιπροσωπεύει μια τεράστια βιομάζα της τάξεως των 10^{14} βακτηριακών κυττάρων, που υπολογίζεται ότι περιλαμβάνουν πάνω από 400 διαφορετικά είδη. Αυτό το ποικιλόμορφο μικροβιακό περιβάλλον συμβάλλει αποφασιστικά στην διεκπεραίωση σημαντικών μεταβολικών δραστηριοτήτων, ιδιαίτερα αυτών που πραγματοποιούνται στο κόλον, γεγονός που το καθιστά ένα ιδιαίτερα σημαντικό σύστημα για την φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού (14).

2.1 Ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας

Κατά την ενδομήτριο ζωή ο εντερικός βλεννογόνος του βρέφους είναι φυσιολογικά στείρος, στην γέννα όμως φαίνεται να αποικίζεται από βακτήρια όπως *bifidobacteria* και *lactobacilli* που μεταφέρονται από το μητρικό κανάλι κατά την διάρκεια της γέννας. Ο εντερικός βλεννογόνος των βρεφών που γεννιούνται με καισαρική τομή αποικίζεται αρχικά από βακτήρια που προέρχονται από το νοσοκομειακό περιβάλλον και τα οποία φαίνεται τελικά να επηρεάζουν την συνολική σύσταση της εντερικής τους μικροχλωρίδας ενώ υπάρχουν στοιχεία που αποδεικνύουν ότι τα βρέφη που προέρχονται από φυσιολογικό τοκετό φαίνεται να επωφελούνται από την εγκαθίδρυση της εντερικής μικροχλωρίδας, διαμέσου της μητέρας, όσον αφορά στην μείωση του κινδύνου εμφάνισης νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. Επίσης στις ανεπτυγμένες χώρες, όπου οι συνθήκες υγιεινής εξασφαλίζουν στα βρέφη ένα, κατά το δυνατό, αποστειρωμένο περιβάλλον, ο αποικισμός του εντέρου από την απαραίτητη βακτηριακή μικροχλωρίδα φαίνεται να καθυστερεί ακόμα περισσότερο (5, 14).

Η εντερική μικροχλωρίδα των νεογνών είναι αρχικά αρκετά απλή ενώ η περαιτέρω ανάπτυξή της επηρεάζεται σημαντικά από την ηλικία γέννησης και τις διατροφικές συνήθειες που αναπτύσσονται (2, 6). Η ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας, για τα θηλάζοντα νεογνά, πραγματοποιείται σε τέσσερις φάσεις. Η πρώτη φάση (η φάση της αρχικής απόκτησης) διαρκεί τις πρώτες εβδομάδες μετά την γέννηση, η δεύτερη είναι η περίοδος του μητρικού θηλασμού, η τρίτη χαρακτηρίζεται ως η περίοδος μετάβασης από τον αποκλειστικό θηλασμό στην ταυτόχρονη χορήγηση συμπληρωμάτων ενώ η τέταρτη περίοδος ολοκληρώνεται με την σταδιακή εισαγωγή στο διαιτολόγιο του βρέφους και στερεών τροφών (4, 13, 17). Τα βρέφη που θηλάζουν αποικίζονται από πληθυσμούς που περιλαμβάνουν *bifidobacteria* και *lactobacilli* καθώς και πολύ λίγα *bacteroides*, κλοστρίδια και κολλίμορφα, ενώ η μικροχλωρίδα των βρεφών που τρέφονται με φόρμουλες γάλακτος φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη ποικιλομορφία περιλαμβάνοντας ακόμα μεγαλύτερο αριθμό *bacteroides*, κλοστρίδιων και εντερικών βακτηρίων (2,17). Παρόλα αυτά το μέγεθος αυτών των πληθυσμών μπορεί να διαφέρει σημαντικά μεταξύ διαφορετικών ερευνών. Πάνω από δεκαοχτώ διαφορετικές ομάδες βακτηρίων έχουν απομονωθεί από το κατώτερο γεννητικό σύστημα

των εγκύων γυναικών και αποτελούν τους πρώτους βακτηριακούς πληθυσμούς στους οποίους εκτίθενται τα νεογνά. Στον **Πίνακα I** παρατίθενται οι κυριότερες κατηγορίες βακτηρίων που ανιχνεύονται στο κατώτερο γεννητικό σύστημα των εγκύων γυναικών, συγκρινόμενα με τα βακτήρια που ανιχνεύονται στα κόπρανα νεογνών και βρεφών.

Το επόμενο κύριο στάδιο βακτηριακής αποίκησης πραγματοποιείται στην περίοδο κατά την οποία τα βρέφη, μετά τον απογαλακτισμό τους, περνάνε σε υγρή τροφή. Στην φάση αυτή οι εντερικοί μικροοργανισμοί διαφοροποιούνται, αναπτύσσονται και αρχίζουν να σχηματίζουν μια περισσότερο σύνθετη μικροχλωρίδα, παρόμοια με αυτή των ενηλίκων. *Bacteroides* και άλλα Gram αρνητικά βακτήρια αρχίζουν να επικρατούν και τελικά εμφανίζεται μια ευρύτερη ποικιλία πληθυσμών. Μετά την ανάπτυξη και εγκατάσταση αυτής της ανώτερης μορφής εντερικής μικροχλωρίδας διατηρείται γενικά η ίδια μορφή βακτηριακών τάξεων για το υπόλοιπο της ζωής, η οποία όμως μπορεί να διαφοροποιηθεί θεαματικά, με την πάροδο του χρόνου, σε επίπεδο δραστηριότητας. Σε αυτή την ανώτερη μορφή εντερικής μικροχλωρίδας επικρατούν μη σποριογόνα, αυστηρά αναερόβια βακτήρια εκ των οποίων τα *bacteroides* και τα *fusobacteria* αντιπροσωπεύουν τα επικρατέστερα Gram αρνητικά βακτήρια, ενώ τα *bifidobacteria* αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των Gram θετικών πληθυσμών, με ταυτόχρονη συνύπαρξη μικρότερων πληθυσμών κλοστριδίων, λακτοβακίλλων και Gram θετικών κόκκων. Παρόλα αυτά οι αριθμοί των βακτηριακών πληθυσμών που αναφέρονται παραπάνω παρουσιάζουν μια αξιοσημείωτη ποικιλομορφία από άτομο σε άτομο (15).

Πίνακας I. Σύγκριση των βακτηρίων που ανιχνεύονται στο κατώτερο γεννητικό σύστημα των εγκύων γυναικών με αυτά που ανιχνεύονται στα κόπρανα νεογνών και βρεφών

Ομάδα βακτηρίων	Κατώτερο γεννητικό σύστημα γυναικών	Κόπρανα νεογέννητων (<1 εβδομάδας)	Κόπρανα βρεφών (>1 μηνός)
Αερόβια ή προαιρετικά αναερόβια			
Bacillus sp.	Μέτριο	Χαμηλό	Χαμηλό
Enterobacteria sp.	Χαμηλό	Μέτριο	Μέτριο
Enterococcus sp.	Χαμηλό	Μέτριο	Μέτριο
Lactobacillus sp.	Μέτριο	Χαμηλό	Μέτριο
Micrococcus sp.	Χαμηλό	Χαμηλό	Χαμηλό
Propionibacterium sp.	Μέτριο	Μέτριο	Μέτριο
Staphylococcus sp.	Χαμηλό	Χαμηλό	Χαμηλό
Streptococcus sp.	Μέτριο	Μέτριο	Μέτριο
Αναερόβια			
Bacteroides sp.	Μέτριο	Υψηλό	Υψηλό
Bifidobacterium sp.	Μέτριο	Υψηλό	Υψηλό
Clostridium sp.	Χαμηλό	Χαμηλό	Μέτριο
Eubacterium sp.	Μέτριο	Μέτριο	Υψηλό
Fusobacterium sp.	Μέτριο	Μέτριο	Υψηλό
Peptostreptococcus sp.	Μέτριο	Μέτριο	Υψηλό
Ruminococcus sp.	Μέτριο	Χαμηλό	Μέτριο
Veillonella	Μέτριο	Μέτριο	Μέτριο

2.2 Μεταβολική δραστηριότητα της εντερικής μικροχλωρίδας

Αυτή η τεράστια συσσώρευση βακτηριακών ειδών αντιπροσωπεύει μια εξαιρετικά σύνθετη ολότητα με πολλές διαφορετικές αλληλεπιδράσεις. Για

παράδειγμα, το είδος *Veillonella* αξιοποιεί το γαλακτικό οξύ που παράγεται από άλλους βακτηριακούς πληθυσμούς όπως τα *bifidobacteria* και οι *lactobacilli*. Για αυτό το λόγο το γαλακτικό οξύ φυσιολογικά δεν ανιχνεύεται στα περιττώματα υγιών ατόμων, ενώ μερικές φορές αναγνωρίζεται στα κόπρανα νεογνών εξαιτίας της ατελούς ανάπτυξης της εντερικής τους μικροχλωρίδας (15).

Η παρουσία και η μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών που αποικίζουν το έντερο διαδραματίζει αποφασιστικό ρόλο στην διατήρηση της ισοροπίας όσον αφορά στην υγεία του οργανισμού και στις ασθένειες που πιθανόν εμφανιστούν. Έτσι, αρχικά, η μικροβιακή χλωρίδα του γαστρεντερικού σωλήνα παίζει πρωτεύοντα ρόλο στην διαδικασία συμπλήρωσης πιθανών ελλείψεων του μηχανισμού πέψης και αφομοίωσης των τροφών. Εξελικτικά είναι ο λειτουργικός κρίκος που συνδέει τον άνθρωπο με την τροφή του. Στον **Πίνακα II** αναφέρονται μερικές από τις πιο βασικές βιοχημικές και μεταβολικές λειτουργίες των μικροοργανισμών του πεπτικού συστήματος (6).

Πίνακας II. Βιοχημικός και μεταβολικός ρόλος της μικροβιακής χλωρίδας του γαστρεντερικού συστήματος στον άνθρωπο.

Μεταβολική Δραστηριότητα	Παράδειγμα
Σύνθεση βιταμινών	Θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, πυριδοξίνη, B12, K.
Παραγωγή αερίων	CO ₂ , CH ₄ , H ₂ .
Παραγωγή οσμών	H ₂ S, NH ₃ , αμίνες, ινδόλιο, σκατόλη, βουτυρικό οξύ.
Μεταβολική Δραστηριότητα	Παράδειγμα
Παραγωγή οργανικών οξέων	Οξικό, προπιονικό, βουτυρικό.
Δέσμευση αζώτου	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (σε άτομα με

	διαιτολόγιο πλούσιο σε υδατάνθρακες και φτωχό σε πρωτεΐνες).
Αντιδράσεις γλυκοζιδασών	β-γλυκουρονιδάση, β-γαλακτοζιδάση, β-γλουκοζιδάση, α-γλουκοζιδάση, α-γαλακτοζιδάση.
Μεταβολισμός χολικών	Εστεροποίηση, δευδροξυλίωση, οξείδωση, αναγωγή, ιμβερτοποίηση.

Αυτές οι μεταβολικές δραστηριότητες δεν πραγματοποιούνται από όλους τους μικροοργανισμούς, και οι όποιες αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα λόγω διατροφής, κάποιας ασθένειας ή χρήσης φαρμακευτικών σκευασμάτων (ή άλλων δραστικών ουσιών) μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά τον οργανισμό. Τα αντιβιοτικά, για παράδειγμα, μπορούν να μεταβάλλουν μέχρι και να εξαφανίσουν την φυσιολογική μικροχλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος και μόνο μετά το πέρας της αντιβιοτικής αγωγής η φυσιολογική χλωρίδα επανεγκαθίσταται, γεγονός που μερικές φορές παίρνει αρκετό χρόνο.

Μια άλλη ενδιαφέρουσα περίπτωση ωφέλιμης προσαρμογής της γαστρεντερικής μικροχλωρίδας σε ιδιαίτερο διατροφικό περιβάλλον είναι αυτή που διαπιστώθηκε σε ιθαγενείς της Νέας Γουινέας, που συνηθίζουν να τρέφονται σχεδόν αποκλειστικά με γλυκοπατάτες, τροφή εξαιρετικά φτωχή σε πρωτεϊνικό άζωτο. Κάτω από αυτές τις συνθήκες η φυσιολογική χλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος βρέθηκε να έχει εμπλουτισθεί με βακτήρια του είδους *Klebsiella pneumoniae*, τα οποία μέσω του συστήματος νιτρογενάσης που διαθέτουν ζουν και δεσμεύουν μοριακό άζωτο καλύπτοντας έτσι τις ανάγκες του οργανισμού (6).

Εκτός από όλα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω, η ικανότητα της βακτηριακής μικροχλωρίδας να ρυθμίζει την λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, να μεταβόλιζει καρκινιγόνους παράγοντες και να αποτελεί ένα άμεσο εμπόδιο σε κάθε παθογόνο οργανισμό που εισβάλλει στο γαστρεντερικό σύστημα είναι μερικά ακόμα μόνο από τα παραδείγματα της λειτουργικής δραστηριότητας της εντερικής μικροχλωρίδας. Οι υπόλοιπες λειτουργίες συνοψίζονται στον **Πίνακα III** και συνήθως ποικίλλουν από οργανισμό σε οργανισμό ανάλογα με την σύνθεση της εκάστοτε

μικροχλωρίδας (13, 15). Επειδή όμως η παραπάνω περιγραφή αναφέρεται σε βακτηριακούς πληθυσμούς που ανιχνεύθηκαν στα κόπρανα των υπό μελέτη οργανισμών και δεδομένου ότι οι πληθυσμοί αυτοί δεν είναι αντιπροσωπευτικοί της σύστασης του συνόλου της μικροχλωρίδας που αποικίζει τον γαστρεντερικό σωλήνα, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω πληροφόρηση και έρευνα πάνω στο θέμα αυτό.

Πίνακας III. Δραστηριότητες της εντερικής μικροχλωρίδας

Διαδικασία	Παράδειγμα	Αποτελέσματα στον οργανισμό
Πρωτεόλυση και ζύμωση αμινοξέων	Ανακύκλωση C και N των πρωτεϊνών και των πεπτιδίων στα κατάλοιπα της πέψης και στα παγκρεατικά εκκρίματα. Παραγωγή αμμωνίας, αμινών, HS^- , φαινολών και ινδολίων.	Τοξικοί μεταβολίτες που σχετίζονται με το ηπατικό κώμα, άλλα νευρολογικά συμπτώματα, κυτοτοξικότητα και καρκίνος του παχέος εντέρου. Παραγωγή αερίων.
Ζύμωση υδατανθράκων	Πέψη των αμυλούχων τροφίμων καθώς και των μη αμυλούχων πολυσακχαριτών και ολιγοσακχαριτών που διαφεύγουν της πέψης στο λεπτό έντερο.	Ο σχηματισμός SCFA υποστηρίζει την ανάπτυξη των επιθηλιακών κυττάρων. Αυξημένη βακτηριακή ανάπτυξη και αποβολή μέσω κοπράνων. ↓απορρόφηση τοξικών παραγώγων της πρωτεϊνικής ζύμωσης. Παραγωγή αερίων.
Διαδικασία	Παράδειγμα	Αποτελέσματα στον οργανισμό
Ανακατάταξη υδρογόνου	Παραγωγή μεθανίου, ακετογένεση, σχηματισμός	Μείωση της συγκέντρωσης αερίων στο παχύ έντερο,

	HS ⁻	HS ⁻ κυτοτοξικότητα και ελκώδης κολίτιδα ?
Μεταβολισμός χολικού οξέος	Υδροξυλίωση χολικών οξέων.	Δευτερογενής απορρόφηση χολικών οξέων. Πιθανή προώθηση της δραστηριότητας στον καρκίνο του παχέος εντέρου.
Παραγωγή μεταλλαξιογόνων παραγόντων	N-νιτρίωση δευτερογενών αμινών.	Καρκίνος του παχέος εντέρου.
Μεταβολισμός νευροστεροειδών	Χημικός μετασχηματισμός χοληστερόλης, φυτοστερολών και στεροειδών ορμονών.	Επαναπορρόφηση και ανακύκλωση μειωμένων κορτικοστεροειδών, προγεστερόνης, οιστρογόνων, πιθανή συσχέτιση με καρκίνο του στήθους?
Ανάπτυξη και ρύθμιση του ανοσοπ/κού συστήματος	Αποδείχτηκε σε έρευνες και μελέτες με προβιοτικά.	Ενίσχυση της αντίστασης στις μολύνσεις.
Αντίσταση στον αποικισμό παθογόνων βακτηρίων	Προστατευτική επίδραση της φυσιολογικής μικροχλωρίδας έναντι στους εισβολείς.	Αυξημένη αντίσταση στις ασθένειες.

Το πόσο ζωτικής σημασίας είναι η γαστρεντερική μικροχλωρίδα για την επιβίωση του ανθρώπου και των ζώων, καταδεικνύεται από πειράματα που γίνονται σε ελεύθερα, αποίκισης από μικρόβια, ζώα, τα οποία διαφέρουν σημαντικά από τα συνήθη. Κατ'αρχήν δεν διαθέτουν επαρκή συστήματα άμυνας έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών. Επίσης, το μέγεθος

ορισμένων οργάνων που υπό φυσιολογικές συνθήκες φιλοξενούν μεγάλους βακτηριακούς πληθυσμούς, είναι κατά κανόνα μικρότερο. Τέλος, οι θρεπτικές ανάγκες των ελεύθερων μικροβίων ζώων διαφέρουν σημαντικά από αυτές των φυσιολογικών. Οι διαφορές αυτές που αναφέρθηκαν παραπάνω φαίνονται συνοπτικά στον **Πίνακα IV** (6).

Πίνακας IV. Συγκριτικές διαφορές μεταξύ φυσιολογικών και ελεύθερων μικροβίων ζώων.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΖΩΑ	ΕΛΕΥΘΕΡΑ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ ΖΩΑ
Μέγεθος οργάνων	Κανονικό	Σημαντικά αλλοιωμένο
Ανάγκες σε βιταμίνη Κ	Ουδεμία	Μεγάλες. Εξαφανίζονται αν το ζώο εμβολιασθεί με <i>E. coli</i> .
Παθογόνος δράση κοινών σαπρόβιων βακτηρίων	Ουδεμία	Μεγάλη
Δυνατότητα μόλυνσης με <i>Vibrio cholerae</i> και <i>Singella dysenteriae</i>	Δύσκολη	Εύκολη
Τερηδόνα δοντιών	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Τοιχώματα γαστρεντερικού	Ανθεκτικά και αντιδρούν σε μηχανικά ερεθίσματα	Λεπτά και δεν αντιδρούν σε μηχανικά ερεθίσματα
Διάρκεια ζωής	Κανονική	Μικρή

2.3 Αντίσταση στον αποικισμό παθογόνων

Η αντίσταση του οργανισμού στον αποικισμό του από παθογόνους πληθυσμούς είναι μια σειρά φυσιολογικών αλλαγών και ανοσοποιητικών απαντήσεων και συνίσταται στην ικανότητα του συνόλου των μικροοργανισμών, που απαρτίζουν την φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα του ανθρώπου, να παρακωλύουν την εγκατάσταση παθογόνων. Αυτή η αντίσταση στα παθογόνα βακτήρια είναι αποτέλεσμα μιας σειράς άμεσων και έμμεσων μηχανισμών.

Ανάμεσα στους μηχανισμούς που επηρεάζουν έμμεσα την αντίσταση του οργανισμού στον αποικισμό του από παθογόνα βακτήρια σημαντικό ρόλο κατέχουν και μερικές από τις χαρακτηριστικές λειτουργίες της φυσιολογικής μικροχλωρίδας. Για παράδειγμα, ο ταχύτερος ρυθμός διέλευσης των προς πέψη ουσιών διαμέσου του εντέρου στους φυσιολογικούς οργανισμούς, συγκριτικά με τα ζώα με στείρο εντερικό περιβάλλον, είναι καθοριστικός στην πρόληψη εγκατάστασης παθογόνων ή πιθανών παθογόνων μικροοργανισμών στον εντερικό αυλό. Είναι επίσης γνωστό ότι το ανοσοποιητικό σύστημα είναι σε μεγάλο βαθμό αυτό που ρυθμίζει την σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας, μιας και όπως έχει αποδειχθεί, οργανισμοί στους οποίους εκτιθέμεστα αμέσως μετά την γέννηση μας φαίνεται να καθορίζουν σημαντικά την ισοροπία της εντερικής μας μικροχλωρίδας για το υπόλοιπο της ζωής μας (4, 15).

Οι άμεσοι μηχανισμοί με τους οποίους η εντερική μικροχλωρίδα μας προστατεύει από την εγκατάσταση παθογόνων βακτηριοειδών συνίστανται στην ιδιαιτερότητα των ήδη εγκατεστημένων βακτηριακών πληθυσμών να καθιστούν εξαιρετικά δύσκολη την εγκατάσταση νεοεισαχθέντων μικροοργανισμών. Ένα εντυπωσιακό παράδειγμα αυτών των μηχανισμών παρατηρήθηκε για πρώτη φορά το 1960 αλλά δυστυχώς ακόμα και σήμερα, αρκετές δεκαετίες μετά, οι ακριβείς μηχανισμοί που καθιστούν τόσο δύσκολο τον αποικισμό του εντερικού οικοσυστήματος από εξωγενείς οργανισμούς παραμένουν ασαφείς. Σε γενικές γραμμές πάντως, οι μηχανισμοί αυτοί μπορούν να συνοψιστούν στις παρακάτω τέσσερις λειτουργίες :

- **Ανταγωνισμός:** δύο ή περισσότεροι μικροβιακοί τύποι ανταγωνίζονται για κάποιο παράγοντα του οικοσυστήματος ο οποίος ανεπαρκεί για να καλύψει τις ανάγκες όλων των αποικιστών. Κάτι τέτοιο μπορεί να αφορά σε ανταγωνισμό για θρεπτικά συστατικά, χώρο, κτλ.

- **Amensalism:** η αναστολή της δράσης ενός ή περισσότερων μικροβιακών τύπων από την δράση τοξικής ουσίας που παράγεται από κάποιον άλλο τύπο. Ένα καλό παράδειγμα αποτελούν τα μικρής αλύσου λιπαρά οξέα που παράγονται από αυστηρά αναερόβια βακτήρια και καταστέλλουν σημαντικά την δράση αναερόβιων, παθογονικών βακτηρίων όπως η *Salmonella*, κάτω από κατάλληλες συνθήκες pH και Eh.
- **Predation:** ένας μικροβιακός τύπος καταναλώνει ως τροφή έναν άλλο, μικρότερο.
- **Παρασιτισμός:** ένας μικροβιακός τύπος καταναλώνει έναν άλλο, μεγαλύτερο.

2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τον βακτηριακό αποικισμό του εντέρου.

Το εντερικό οικοσύστημα μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από τρία κύρια “συστατικά” που βρίσκονται σε συνεχή επαφή και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με σύνθετο τρόπο : τα κύτταρα του οργανισμού, τα βακτηριακά κύτταρα και τα θρεπτικά συστατικά.

Σε ένα φυσιολογικό άτομο, ο χρόνος διέλευσης διαμέσου του γαστρεντερικού συστήματος κυμαίνεται μεταξύ 55 – 72 ωρών. Η διέλευση από το τυφλό είναι γρήγορη, διαρκώντας μόλις 4 – 6 ώρες, ενώ στη συνέχεια η πεπτόμενη τροφή μπορεί να παραμείνει στο κόλον για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα της τάξης περίπου των 56 ωρών. Η εξαιρετικά αυτή αργή κίνηση είναι ένας από τους παράγοντες που επιτρέπουν τον αποικισμό του παχέος εντέρου από έναν εντυπωσιακό όγκο βιομάζας. Ωστόσο, οι γνώμες σχετικά με το κατά πόσο τα βακτήρια προσκωλλόνται απευθείας στα εντεροκύτταρα, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, φαίνεται να δίστανται. Για τον λόγο αυτό απαιτείται περαιτέρω έρευνα και καλύτερη κατανόηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των τριών κύριων παραγόντων του εντερικού οικοσυστήματος (15).

2.4 Ι.Εξωγενείς παράγοντες αποίκησης

Οι κυριότεροι παράγοντες είναι το μικροβιακό φορτίο του άμεσου περιβάλλοντος, οι διατροφικές συνήθειες και η σύνθεση της μητρικής μικροχλωρίδας. Μεταξύ αυτών πρωτεύοντα ρόλο διαδραματίζει η διαίτα, της οποίας η σύσταση είναι καθοριστική στην ανάπτυξη και τον αποικισμό των μικροοργανισμών στο εντερικό περιβάλλον (3, 4, 15).

2.4.II.Ενδογενείς παράγοντες αποίκησης

Στους ενδογενείς παράγοντες συγκαταλέγονται η φυσιολογία του ξενιστή, η διάρκεια της κύησης (2, 14), τα ενδογενή θρεπτικά συστατικά και η μικροβιακή χλωρίδα. Η ανάπτυξη της μικροβιακής μικροχλωρίδας επηρεάζεται ακόμα από πολλούς άλλους παράγοντες, όπως το εντερικό pH, οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, παράγοντες που σχετίζονται με την φυσιολογία, την περίσταση, τα χολικά οξέα, τις εκκρίσεις του ξενιστή, την ανοσολογική ανταπόκριση, τις θεραπείες με φάρμακα και τους βακτηριακούς υποδοχείς του εντερικού βλεννογόνου.

Γενικά, όσον αφορά στα νεογνά, ο μικροβιακός αποικισμός του εντέρου είναι μια πολύπλοκη διαδικασία η οποία ολοκληρώνεται στον πρώτο χρόνο της ζωής. Η ανατομική διαφοροποίηση του εμβρυικού εντερικού περιβάλλοντος στον άνθρωπο έχει ολοκληρωθεί ήδη κατά την 20η εβδομάδα της κύησης (7). Παρόλα αυτά η διαδικασία της έκκρισης των περισσότερων πεπτικών ενζύμων φαίνεται να ωριμάζει περί το τέλος της κύησης (8, 9). Π.χ. η δραστηριότητα της λακτάσης την 34η εβδομάδα της κύησης φτάνει μόνο στο 30 % του επιπέδου της δραστηριότητας που παρατηρείται σε ένα τελειόμηνο νεογνό (10). Επιπροσθέτως, η διαδικασία ανταπόκρισης του εντερικού περιβάλλοντος στα θρεπτικά συστατικά που έρχονται σε επαφή με αυτό είναι απύσχα μέχρι και την 31η εβδομάδα, ενώ ακόμα και κατά την 40η εβδομάδα είναι αρκετά ανώριμη (11).

Πιο συγκεκριμένα, σε μια πρόσφατη έρευνα, αποδείχτηκε ότι η εντερική διπερατότητα φαίνεται να αυξάνεται σημαντικά κατά την διάρκεια της πρώτης εβδομάδας μετά την γέννηση, αύξηση που ήταν περισσότερο εντυπωσιακή σε πρόωρα νεογνά < 28 εβδομάδων, ενώ άρχισε να μειώνεται κατά την διάρκεια της δεύτερης νεογνικής εβδομάδας, μετά την έναρξη εντερικής διατροφής (12).

3. ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ : ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ

Ως προβιοτικά χαρακτηρίζονται κλασσικά, βιώσιμα μικροβιακά διαιτητικά συμπληρώματα, τα οποία όταν καταναλώνονται σε συγκεκριμένες ποσότητες ασκούν ωφέλιμη επίδραση στην υγεία του ξενιστή, ιδιαίτερα μέσω της δράσης τους στο γαστρεντερικό σύστημα. Ωστόσο, ο παραπάνω ορισμός χρησιμοποιήθηκε αρχικά για την περιγραφή προϊόντων που προορίζονταν για την διατροφή ζώων. Έτσι, τα τελευταία χρόνια προτάθηκε ένας νέος ορισμός περισσότερο αντιπροσωπευτικός της ανθρώπινης διατροφής που ορίζει τα προβιοτικά ως ζωντανά μικροβιακά συστατικά των τροφών τα οποία γενικότερα ευνοούν και προάγουν την υγεία (18). Τα βακτηριακά γένη που χρησιμοποιούνται περισσότερο συχνά ως προβιοτικά είναι τα *Lactobacilli* και τα *bifidobacteria* (Πίνακας V).

Τα κυριότερα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για την κατάταξη ενός μικροοργανισμού στην ομάδα των προβιοτικών είναι : 1) ικανότητα επιβίωσης παρουσία της χολής και σε συνθήκες χαμηλού pH κατά τη διέλευση διαμέσου του γαστρεντερικού σωλήνα, 2) υποστήριξη των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων, 3) σταθεροποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας, 4) μη-παθογονικές ιδιότητες, 5) ικανότητα συντήρησης μέσα στα τρόφιμα και πιθανότητα φαρμακευτικής παραγωγής τους, 6) γρήγορος πολλαπλασιασμός τους και αποικισμός (άλλοτε προσωρινός, άλλοτε μόνιμος) του γαστρεντερικού σωλήνα, 7) συμβατότητα κατά γένος (19, 20).

Επί του παρόντος, τα περισσότερα προβιοτικά καταναλώνονται σχεδόν αποκλειστικά ως συστατικά γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση, ιδιαίτερα του γιαουρτιού, στο μέλλον όμως είναι πολύ πιθανό να αποτελούν συστατικό λαχανικών ή ακόμα και κρεάτων (21). Και αυτό γιατί ήδη, σε πάρα πολλές έρευνες έχουν τεκμηριωθεί τα θετικά οφέλη των προβιοτικών στην υγεία, τόσο όσον αφορά στην βελτίωση οργανικών λειτουργιών όσο και στην μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης διάφορων ασθενειών (22-25).

Πίνακας V. Μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά στον άνθρωπο και τα ζώα.

Βακτήρια	Μαγιά και Μούχλες
Lactobacillus	
▪ Acidophilus	• A. cerevisiae
▪ Plantarum	• C. pintolopesii
▪ Casei	• A. niger
▪ Rhamnosum	• A. oryzue
▪ GG	
▪ Delbrueck subsp. Bulgaricus	
▪ Reuteri	
▪ Fermentum	
▪ Brevis	
▪ Lactis	
▪ Cellobiosus	
Bifidobacterium	
▪ Bifidum	
▪ Infantis	
▪ Longum	
▪ Thermophilum	
▪ Adolescents	
▪ Animalis	
Streptococcus	
▪ Lactis	
▪ Cremoris	
▪ Intermedius	
▪ Alivarius subsup. thermophilus	

3.1 Προβιοτικά ως βιοθεραπευτικοί παράγοντες

3.1.1. Μείωση της δυσανοχής στην λακτόζη

Η δυσανοχή στην λακτόζη είναι ένα πρόβλημα που ταλαιπωρεί ~70% του πληθυσμού ανά τον κόσμο και χαρακτηρίζεται από μειωμένη δραστηριότητα της εντερικής β-γαλακτοζιδάσης, με αποτέλεσμα η λακτόζη, στα άτομα αυτά, να δρα σαν ένας ωσμωτικός, μη-πεπτόμενος υδατάνθρακας. Η κλινική σπουδαιότητα της δυσανοχής αυτής είναι περισσότερο εμφανής στα παιδιά, όπου εκδηλώνεται με οξεία διάρροια και υπολείμματα άπεπτων σακχάρων στα κόπρανα. Στους ενήλικες, τα κλινικά συμπτώματα δεν είναι τόσο σοβαρά και περιλαμβάνουν κυρίως κοιλιακό άλγος, κράμπες και αίσθημα «μετεωρισμού». Στο σημείο αυτό θα πρέπει να προσθέσουμε ότι η δευτερογενής δυσανοχή στην λακτόζη παρατηρείται συχνά και σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση εκτομής του εντέρου καθώς επίσης και στους πάσχοντες από ενετερίτιδα (29).

Τα προβιοτικά έχει αποδειχθεί να βελτιώνουν την πέψη και απορρόφηση της λακτόζης, μειώνοντας τα συμπτώματα της δυσανεξίας, τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιά (22, 26-28). Συγκεκριμένα, η κατανάλωση γιαουρτιού φάνηκε να βελτιώνει σημαντικά την απορρόφηση της λακτόζης και την εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων σε ασθενείς με ανεπάρκεια στην λακτάση (30-34). Ευνοικά αποτελέσματα αποδείχτηκε πως έχει και η πρόσληψη ζώντων βακτηρίων, επιλεγμένων ειδικά για την αυξημένη δραστηριότητα β-γαλακτοζιδάσης που έχουν (35-37). Παρόλα αυτά, η θερμική επεξεργασία προϊόντων που έχουν υποστεί ζυμώσεις είναι πιθανόν να αναστείλει σημαντικά την δράση βακτηρίων του είδους *Lactobacillus*.

Ένας δεύτερος μηχανισμός δράσης, που εξηγεί την ευνοική δράση των προβιοτικών στην βελτίωση πέψης και απορρόφησης της γλυκόζης, σχετίζεται με την παρατεταμένη εντερική μεταφορά της λακτόζης που παρατηρείται μετά την κατανάλωση γιαουρτιού, συγκριτικά με αυτήν που παρατηρείται μετά την πρόσληψη γάλακτος, και οφείλεται αποκλειστικά στην ιδιαίτερα παχύρευστη υφή του γιαουρτιού (33-38).

3.1.II. Διάρροικές κενώσεις σχετιζόμενες με λήψη αντιβιοτικών

Περίπου 20% των ασθενών που ακολουθούν θεραπευτική αγωγή με αντιβιοτικά θα εμφανίσουν διάρροια εξαιτίας των αλλαγών στις οποίες υπόκειται η εντερική τους μικροχλωρίδα (39). Αυτή η τροποποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας (ιδιαίτερα στους πληθυσμούς του γένους *Lactobacillus*) είναι συνήθως το αίτιο της διάρροιας, της αφυδάτωσης και της διατάραξης της ηλεκτρολυτικής ισορροπίας που παρατηρείται στα άτομα αυτά, ενώ μπορεί ταυτόχρονα να προκαλέσει και μείωση των διαδικασιών ζύμωσης που επιτελούνται στο κόλον (40-43). Αν και αρκετές έρευνες μέχρι τώρα έχουν αποδείξει κάποια ευεργετική δράση των προβιοτικών σε αυτή την παθολογική κατάσταση, ωστόσο κρίνεται απαραίτητη η εκπόνηση περισσότερων και καλύτερα οργανωμένων ερευνών προκειμένου να κατανοηθεί πλήρως η προφυλακτική δράση των προβιοτικών στα δευτερογενή αποτελέσματα συγκεκριμένων αντιβιοτικών.

3.1.III. Γαστρεντερίτιδα

Τα πιθανά αίτια της γαστρεντερίτιδας μπορεί να είναι ιικά, βακτηριακά ή παρασιτικά (39) ενώ η ίδια αποτελεί το κύριο αίτιο της οξείας διάρροιας. Η θεραπεία συνίσταται κυρίως στην χρήση υδατικών διαλυμάτων, για την επανυδάτωση του οργανισμού, και συνεπώς η χρήση αντιβιοτικής θεραπείας σπανίως χρησιμοποιείται. Ωστόσο, και η δράση των προβιοτικών φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο, κυρίως στην πρόληψη της νόσου (44-45).

- *Ιογενής γαστρεντερίτιδα σε παιδιά*

Τα περισσότερα οφέλη από την δράση των προβιοτικών έχουν διαπιστωθεί στην αντιμετώπιση των περιστατικών παιδιατρικής διάρροιας.

Πολλές έρευνες έχουν γίνει κατά καιρούς έχοντας σαν στόχο την ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων των βακτηρίων του γένους *Lactobacillus* στην αντιμετώπιση της εμβρυικής διάρροιας (46-53). Περισσότερο επιτυχείς αποδείχτηκαν οι έρευνες που σχετίζονταν με την πρόληψη και θεραπεία της ιογενούς γαστρεντερίτιδας από το γένος *Lactobacillus rhamnosus* GG. Το γένος αυτό έχει χρησιμοποιηθεί επανειλημμένα για την αποτελεσματική μείωση της διάρκειας της οξείας διάρροιας (54-62). Ανάλογα αποτελέσματα έχουν προκύψει και για

άλλα είδη, μεταξύ των οποίων το *Lb. casei* Shirota (63), το *Enterococcus faecium* SF 68 (64-67), ακόμα και για το γιαούρτι.

Όσον αφορά στην πρόληψη της ιογενούς γαστρεντερίτιδας, η πιο γνωστή έρευνα είναι αυτή που εκπονήθηκε από τους Saavedra et al. σε νεογνά που νοσηλεύονταν για μεγάλο χρονικό διάστημα σε κάποιο νοσηλευτικό ίδρυμα και από την οποία, τελικά, προέκυψε ότι μικροοργανισμοί του είδους *Streptococcus thermophilus* και *Bifidobacterium bifidum* μείωσαν σημαντικά τον κίνδυνο διάρροιας (7% περιστατικά στην ομάδα που προσελάμβανε προβιοτικά έναντι 31 % περιστατικά στην ομάδα ελέγχου) και την διασπορά του ιού (10% διασπορά στην ομάδα που προσελάμβανε προβιοτικά έναντι 39 % διασπορά στην ομάδα ελέγχου) (68). Παρόλα αυτά, πολύ λίγες έρευνες έχουν συγκρίνει τα ευεργετικά οφέλη από την δράση των πλείστων, διαφορετικών προβιοτικών παραγόντων. Για παράδειγμα, σε μια τέτοια έρευνα, αποδείχτηκε ότι ο *Lactobacillus GG* ήταν πολύ πιο αποτελεσματικός όταν συγκρίθηκε με τον *Lactobacillus rhamnosus* ή με τον συνδυασμό *S. thermophilus* και *Lactobacillus delbruckii* (70).

Σε γενικές γραμμές, ανάλογα με το αίτιο της διάρροιας και την διάρκεια της νόσου, η χρήση προβιοτικών κατά την διάρκεια ενός διαρροϊκού επεισοδίου έχει σαν αποτέλεσμα μείωση της περιόδου νόσησης από 1-3 ημέρες. Επιπροσθέτως, τα ευεργετικά αποτελέσματα των προβιοτικών είναι ακόμα μεγαλύτερα στις περιπτώσεις διάρροιας ιικής αιτιολογίας (69).

- *Μόλυνση από Clostridium Difficile μετά από αντιβιοτική θεραπεία*

Οι μολύνσεις από *Clostridium Difficile* είναι συχνές στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας όπου και φαίνεται να επαναλαμβάνονται κατά τακτά χρονικά διαστήματα. Έχει υπολογιστεί ότι περίπου 20% των ασθενών που θεραπεύονται μετά την πρώτη μόλυνση και πάνω από 40% αυτών που ακολουθούν επαναλαμβανόμενες θεραπείες υποτροπιάζουν. Πολλές είναι οι έρευνες που υποδεικνύουν ένα πιθανό, θεραπευτικό ρόλο κάποιων προβιοτικών, όπως του γένους *Saccharomyces boulardii* (71 - 77), όμως οι ενδείξεις αυτές απαιτούν περαιτέρω επιβεβαίωση από περισσότερες και καλύτερα οργανωμένες έρευνες.

3.1.IV. Υπέρμετρη βακτηριακή ανάπτυξη

Αρκετές έρευνες έχουν υποδείξει ότι η υπέρμετρη βακτηριακή ανάπτυξη ήπιας μορφής μπορεί να αντιμετωπιστεί με λακτοβάκιλλους (78, 79), ενώ το είδος *Saccharomyces boulardii* αποδείχτηκε αναποτελεσματικό (79). Ωστόσο, το τελευταίο αποδείχτηκε εξαιρετικά ευεργετικό στην μείωση της διάρκειας των διαρροικών κενώσεων που προκαλούνταν λόγω σίτισης διαμέσου σωλήνα (80 – 82). Επίσης, η διάρροια που προκύπτει μετά από ακτινοβολήση της κοιλιακής χώρας φαίνεται να αντιμετωπίζεται αποτελεσματικά με την χρήση προβιοτικών (83).

3.1.V. Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου

Η ετερογένεια των κλινικών διαταραχών που χαρακτηρίζονται ως φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου είναι εντυπωσιακή, με πιο αντιπροσωπευτικές περιπτώσεις αυτές της ελκώδους κολίτιδας και της νόσου του Crohn. Η αιτιολογία αυτών των κλινικών περιπτώσεων είναι σχετικά άγνωστη αν και έχει πιστοποιηθεί η εμπλοκή πολλών γενετικών, περιβαλλοντικών και μικροβιακών παραγόντων (84, 85, 86). Όπως μπορεί να γίνει εύκολα αντιληπτό, η πολυπλοκότητα αυτών των περιπτώσεων απαιτεί εξειδικευμένη χρήση προβιοτικών για συγκεκριμένες κατηγορίες ασθενών και η δημιουργία κοκτέιλ από διάφορα είδη προβιοτικών, σε συγκεκριμένες δόσεις, φαντάζει, προς το παρόν, η καλύτερη δυνατή λύση για εξατομικευμένη χρήση.

- *Ελκώδης κολίτιδα και νόσος του Crohn*

Έχει ήδη αποδειχθεί ότι τα προβιοτικά βακτήρια “αναχαιτίζουν” την φλεγμονώδη διαδικασία (87 –95) επαυξάνοντας τον εκφυλισμό των εντερικών αντιγόνων, μετριάζοντας την έκκριση φλεγμονωδών διαμεσολαβητών και σταθεροποιώντας την ενδογενή χλωρίδα, με αποτέλεσμα να αποτελούν σημαντικό θεραπευτικό παράγοντα των νόσων του φλεγμονώδους εντέρου. Τα καλύτερα αποτελέσματα, μέχρι στιγμής, έχει δώσει το μείγμα VSL#3 (8 είδη

συμπεριλαμβανομένων lactobacilli, bifidobacteria και Streptococcus) (39).

- Pouchitis

Περίπου το 50% των ασθενών με ελκώδη κολίτιδα που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση πρόκειται να αναπτύξουν pouchitis. Αυτή η παθολογική κατάσταση χαρακτηρίζεται από συχνές και επίμονες κινήσεις του εντέρου, κοιλιακές κράμπες, αιμορραγία και πυρετό. Οι περισσότερες των περιπτώσεων ανταποκρίνονται καλά σε αντιβιοτική θεραπεία αλλά η φλεγμονή επανεμφανίζεται περίπου στα 2/3 των ασθενών. Η ακριβής αιτιολογία της νόσου είναι άγνωστη, έχει όμως συσχετιστεί με μειωμένα επίπεδα ορισμένων βακτηρίων που ανευρίσκονται φυσιολογικά στο εντερικό τμήμα (96). Οι Gionchetti et al. (97), μελέτησαν τις επιπτώσεις των προβιοτικών (μείγμα VSL#3) σε 20 ασθενείς με χρόνια pouchitis συγκρίνοντας την συχνότητα υποτροπής τους με αυτή μιας ομάδας ελέγχου άλλων 20 ασθενών που λάμβαναν ένα placebo σκεύασμα χωρίς βακτήρια. Μετά από θεραπεία 9 μηνών, το 85% της ομάδας που λάμβανε τα προβιοτικά παρέμεναν ακόμα ασυμπτωματικοί, ενώ και τα 20 άτομα της ομάδας ελέγχου υποτροπίασαν μέσα σε 4 μήνες

3.1.VI. Μείωση αλλεργικών αντιδράσεων

Ακόμα και σήμερα η υπόθεση της υγιεινής δεν έχει εγκαταλειφθεί (101). Η αρχική ανάπτυξη της σύστασης της εντερικής χλωρίδας φαίνεται να επηρεάζει αποφασιστικά τους φυσιολογικούς αμυντικούς μηχανισμούς του γαστρεντερικού σωλήνα και είναι εξαιρετικής σημασίας για την φυσιολογική ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος των νεογνών (102 – 104). Η εντερική μικροχλωρίδα κατευθύνει την ρύθμιση της ανοσολογικής ανταπόκρισης επηρεάζοντας την ανάπτυξη του σχετιζόμενου με το έντερο λεμφοειδούς ιστού, από πολύ μικρή ηλικία. Για τον λόγο αυτό, η χρήση των κατάλληλων μικροβιακών παραγόντων στην αποτελεσματική αλλαγή της εντερικής μικροχλωρίδας, μπορεί να μειώσει σημαντικά τον κίνδυνο αλλεργικών αντιδράσεων (105, 145).

Πίνακας VI. Ευεργετικά αποτελέσματα των βακτηρίων γαλακτικού οξέος στην υγεία (97 – 100)

Οφέλη στην υγεία :

- προτεινόμενοι μηχανισμοί

1. Μετριασμός της δυσανοχής στην λακτόζη

- η βακτηριακή β-γαλακτοζιδάση δρα στην λακτόζη

2. Ευεργετική επίδραση στην εντερική χλωρίδα

- μείωση παραγωγής τοξικών μεταβολιτών
- αντιβακτηριακά χαρακτηριστικά

3. Πρόληψη εντερικών λοιμώξεων

- αύξηση παραγωγής αντισωμάτων
- ενεργοποίηση της συστηματικής ή εκκριτικής ανοσολογικής αντίδρασης
- ανταγωνιστικός αποκλεισμός
- τροποποίηση των εντερικών παραγόντων που ευνοούν την ανάπτυξη παθογένειας (pH, μικρής αλύσου λιπαρά οξέα κτλ)
- προσκόλληση στο εντερικό επιθήλιο και πρόληψη προσκόλλησης παθογόνων
- τροποποίηση των θέσεων δέσμευσης τοξινών
- ανταγωνισμός για θρεπτικά συστατικά

4. Προαγωγή του ανοσοποιητικού συστήματος

- ισχυροποίηση της μη-εξειδικευμένης άμυνας κατά των λοιμώξεων
- αυξημένη φαγοκυτταρική δραστηριότητα των λευκών αιμοσφαιρίων
- αυξημένη παραγωγή IgA
- ρύθμιση της ισορροπίας Th1/Th2, σύνθεση κυτοκινών
- πολλαπλασιασμός των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων.

Οφέλη στην υγεία :

- προτεινόμενοι μηχανισμοί

5. Μείωση φλεγμονωδών ή/και αλλεργικών αντιδράσεων

- αποκατάσταση της ομοιόστασης του ανοσοποιητικού συστήματος
- ρύθμιση της σύνθεσης κυτοκινών
- πρόληψη της μεταφοράς αντιγόνων στην ροή του αίματος

6. Αντικαρκινική αντίδραση(οσόν αφορά τον καρκίνο του παχ.εντέρου)

- βλεννώδης δέσμευση
- μείωση της δραστηριότητας καρκινογόνων παραγόντων
- τροποποίηση της δραστηριότητας των εντερικών μικροβίων
- ανοσολογική απάντηση
- επίδραση στην συγκέντρωση των δευτερογενών χολικών αλάτων

7. Επίδραση στα λιπίδια του αίματος και στα καρδιαγγειακά νοσήματα

- αφομοίωση της χοληστερόλης
- τροποποίηση της δραστηριότητας του υδρολυτικού ενζύμου των χολικών αλάτων
- αντιοξειδωτική επίδραση

8. Αντιυπερτασική επίδραση

- η δράση της πεπτιδάσης στο γάλα έχει σαν αποτέλεσμα αντιυπερτασικά τριπεπτίδια
- τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος δρουν ως αναστολείς του ενζύμου μετατροπής της αγγιοτενσίνης

9. Λοιμώξεις του ουροποιητικού

- ανταγωνιστικός αποκλεισμός
- παραγωγή αναστολέων

10. Λοίμωξη από το *Helicobacter pylori*

- ανταγωνιστικός αποκλεισμός
- παραγωγή γαλακτικού οξέος
- μειωμένη δραστηριότητα ουρεάσης του *H.pylori*

3.1.VII. Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου

Το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου είναι μια πολυπαραγοντική διαταραχή του γαστρεντερικού, που δεν σχετίζεται με καμία οργανική νόσο και που ταλαιπωρεί το 15 – 20% του πληθυσμού των βιομηχανοποιημένων χωρών και το 25 – 50% των ασθενών της γαστρεντερολογικής νοσοκομειακής περίθαλψης. Οι γυναίκες φαίνεται να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία συγκριτικά με τους άντρες και ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό της τάξης του 20 – 50% των νοσούντων καταλήγουν τελικά σε κάποιο νοσοκομείο. Το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου είναι συχνό μετά από γαστρεντερίτιδα ή την πάροδο φαρμακευτικής αγωγής με αντιβιοτικά και χαρακτηρίζεται από κοιλιακό άλγος, αίσθημα μετεωρισμού, δυσκοιλιότητα, διάρροια ή ακόμα και δυσπεψία (39).

Κάποιες έρευνες με προβιοτικά έχουν αποδείξει ανακούφιση κάποιων συμπτωμάτων, ιδιότερα του πόνου, της δυσκοιλιότητας και του μετεωρισμού (106, 107). Σε άλλες έρευνες, αναφέρονται πιο περιορισμένα οφέλη, άλλες φορές λόγω χαμηλού επιπέδου συμμόρφωσης (106) και άλλες λόγω μη στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων για ορισμένους από του παράγοντες που μελετώνται (108), για αυτό το λόγο χρειάζεται περαιτέρω έρευνα στον τομέα αυτό.

3.1.VIII. Καρκίνος του παχέος εντέρου

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί την τέταρτη συνηθέστερη αιτία θνητότητας και νοσηρότητας από καρκίνο παγκοσμίως (8,9% όλων των νεοδιαγνωσθέντων καρκίνων με περίπου 400.000 θανάτους/έτος). Προς το παρόν, δεν υπάρχουν άμεσες πειραματικές αποδείξεις για τον ρόλο των προβιοτικών βακτηρίων στην καταστολή του καρκίνου, υπάρχουν όμως κάποιες ενδείξεις (109) και έχουν προταθεί ορισμένοι πιθανοί μηχανισμοί δράσης τους (111) προς την κατεύθυνση αυτή. Αυτοί δημοσιεύονται στις αναφορές (97) και (110) και περιλαμβάνουν :

- Ρύθμιση της ανοσοποιητικής απάντησης (αυξημένη αντίσταση στα χημικά, στις φλεγμονές και σε άλλους παράγοντες)
- Δέσμευση μερικών ή / και όλων των πιθανών καρκινογόνων παραγόντων (αυξημένη εντερική μεταβολική δραστηριότητα)

- Τροποποίηση των μεταβολικών δραστηριοτήτων της εντερικής μικροχλωρίδας (παραγωγή αντικαρκινικών συστατικών)
- Μεταβολή των φυσικο-χημικών συνθηκών στο έντερο (μείωση εντερικής διαπερατότητας, καθυστερημένη απορρόφηση τοξινών, αυξημένη ανανέωση των εντεροκυττάρων)
- Βελτίωση (ποιοτική και ποσοτική) της εντερικής μικροχλωρίδας μειώνοντας του πιθανολογούμενους παραγωγούς καρκινογόνων.

3.1.IX. Ταξιδιωτική διάρροια

Αν και αποτελεί ένα πολύ συνηθισμένο πρόβλημα πολλών ταξιδιωτών ανά τον κόσμο, η χρήση των αντιβιοτικών κατά της διάρροιας δεν συνίσταται σε όλες τις περιπτώσεις (111, 112). Αντ' αυτών, η χρήση προβιοτικών έχει θεωρηθεί ως ένας εναλλακτικός τρόπος θεραπείας και ως ένα βοηθητικό «εργαλείο» πρόληψης. Σε τέσσερις από τις μελέτες που εκπονήθηκαν στην κατεύθυνση αυτή τα αποτελέσματα ήταν θετικά, ενώ σε άλλες τρεις τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά (113 – 119). Στα θετικά αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν συμπεριλαμβάνονται τόσο το μειωμένο ποσοστό των ταξιδιωτών που εμφάνισαν διάρροια όσο και η διάρκεια της διάρροιας αυτής καθεαυτής. Παρόλα αυτά, η ποιότητα και η αξιοπιστία των περισσότερων ερευνών είναι συχνά αμφισβητίσιμη, εξαιτίας του πολύ μικρού βαθμού συμμόρφωσης αλλά και της παρουσίας μιας μεγάλης ποικιλίας συμπτωματικών μολύνσεων, που μπορεί να σχετίζονται είτε με τον συγκεκριμένο προορισμό είτε ακόμα και με τον χώρο διαμονής. Για τον λόγο αυτό, απαιτείται περαιτέρω συστηματική έρευνα πάνω στον τομέα αυτό προτού τα προβιοτικά να θεωρηθούν ως μια προληπτική θεραπεία της ταξιδιωτικής διάρροιας. Σε κάθε περίπτωση όμως, ιδιαίτερη σημασία θα πρέπει να δοθεί στην χορηγούμενη δόση αλλά και την συμμόρφωση του εκάστοτε ασθενούς (39).

3.1.X. Μόλυνση από το *Helicobacter pylori*

Η μόλυνση του στομάχου από το *Helicobacter pylori* σχετίζεται συχνά με την εμφάνιση γαστρίτιδας, γαστρικού ή δωδεκαδακτυλικού έλκους και πιθανώς και με την εμφάνιση καρκίνου του στομάχου. Παρά το γεγονός ότι η χορήγηση αντιβιοτικών για την αντιμετώπιση της γαστρίτιδας κρίνεται αρκετά αποτελεσματική, η πλήρης ίαση είναι δύσκολο να επιτευχθεί με αποτέλεσμα πολύ συχνά ο ασθενής να επιμολύνεται από το συγκεκριμένο μικρόβιο. Η ανασταλτική επίδραση κατά του *Helicobacter pylori* από πολλά βακτήρια του γαλακτικού οξέος έχει διαπιστωθεί εργαστηριακά πολλές φορές (120 – 128,147), παρόλα αυτά η πλήρης ίαση δεν επιτεύχθηκε ποτέ (129). Οι Wendakoon et al. (124) εξέτασαν την δραστηριότητα 63 καλλιιεργειών γάλακτος (απλών ή μειγμάτων), που αναπτύχθηκαν σε αποβουτυρωμένο γάλα, κατά πέντε διαφορετικών ειδών του *Helicobacter pylori*. Τα αρχικά αποτελέσματα αποκάλυψαν 25 είδη με αντιμικροβιακή δραστηριότητα μεταξύ των οποίων τα *Lactobacillus casei*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* και είδη του *Lactococcus lactis*, ενώ οι καλλιέργειες του άπαχου γάλακτος φάνηκε να έχουν ισχυρότερα αποτελέσματα έναντι του *H.pylori*. Επίσης, πολλές καλλιέργειες έδειξαν ισχυρή συνεργιστική δράση στην αντιμετώπιση αυτού του παθογόνου π.χ. τα γαλακτικά οξέα ήταν κατά ένα μόνο μέρος υπεύθυνα για αυτή την ανασταλτική δράση. Οι Bosschaert et al. (130) ανακάλυψαν ότι το *Lactobacillus casei* Shirota έδειξε, εργαστηριακά, μια ιδιαίτερη ικανότητα αναστολής της ανάπτυξης του *Helicobacter pylori* NCTC11637 σε pH 7, κάτι το οποίο δεν φάνηκε να σχετίζεται με την παραγωγή γαλακτικού οξέος. Γενικά, σε διάφορες έρευνες, έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικά κάθε φορά είδη με ποικίλα αποτελέσματα (126, 128, 131, 132).

3.1.XI. Ιικές μολύνσεις

Τα ευεργετικά αποτελέσματα προβιοτικών στις ιικές μολύνσεις φαίνεται ότι κατά πάσα πιθανότητα σχετίζονται με την ενεργοποίηση της δράσης του προβιοτικού παράγοντα στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή. Λαμβάνοντας υπόψη τα ανοσολογικά αποτελέσματα των προβιοτικών, έχουν

προταθεί πολλοί μηχανισμοί δράσης μεταξύ των οποίων η μη-εξειδικευμένες ανοσολογικές αντιδράσεις (π.χ. φαγοκύτωση απο μακροφάγα) αλλά και το εξειδικευμένο αμυντικό σύστημα (συμπεριλαμβανομένων των T4, T8 και B λεμφοκυττάρων που παράγουν αντισώματα. Ένα μεγάλο μέρος της έρευνας έχει επικεντρωθεί στον σπλαχνικό λεμφοειδή ιστό και, τουλάχιστον όσον αφορά στα ζώα, τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* έχουν επιδείξει αξιόλογα αποτελέσματα (133). Όσον αφορά στον άνθρωπο, τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα IgA στον ορό (134, 135) και να ενισχύσουν την φαγοκυττωτική δραστηριότητα των λευκοκυττάρων (136). Οι Hatakka et al. (146), σε μια διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη απέδειξαν ότι η μακροχρόνια κατανάλωση προβιοτικού γάλακτος (εμπλουτισμένου με *Lactobacillus* GG) είχε σαν αποτέλεσμα μείωση των αναπνευστικών λοιμώξεων και της σοβαρότητας τους σε παιδιά που παρακολουθούνταν σε νοσηλευτικά ιδρύματα. Ο δεύτερος μηχανισμός προβιοτικής δράσης σχετίζεται και αυτός με τους αμυντικούς μηχανισμούς κατά των παθογόνων και αναφέρεται συνήθως ως ανταγωνιστικός αποκλεισμός.

Παρά όλες αυτές τις διαφορετικές παρατηρήσεις, μόνο λίγες καλά εμπεριστατωμένες έρευνες που αποδεικνύουν τα αντιικά αποτελέσματα των προβιοτικών έχουν δημοσιευτεί και για το λόγο αυτό απαιτείται περισσότερη διερεύνηση προκειμένου να τεκμηριωθούν όλα αυτά τα προκαταρκτικά αποτελέσματα.

3.1.XII. Υποχοληστεριναιμικά αποτελέσματα

Η υπερχοληστερολαιμία σχετίζεται άμεσα με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων, μια από τις κύριες αιτίες θανάτου σήμερα. Η χρήση των προβιοτικών στην μείωση αυτού του κινδύνου αποτελεί μια ιδιαίτερα ελκυστική προοπτική, ιδιαίτερα όταν καταναλώνονται στα πλαίσια μιας φυσιολογικής καθημερινής διατροφής. Έρευνες που δημοσιεύτηκαν στις δεκαετίες 1970 και 1980 ανέφεραν μειώσεις της τάξης 5 – 17% στην συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης ορού μετά από καθημερινή κατανάλωση εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων για 2-4 συνεχείς εβδομάδες (21). Πιο πρόσφατες έρευνες απέδειξαν επίσης μείωση της ολικής

χοληστερόλης ορού κατά την διάρκεια κατανάλωσης πολύ μεγάλων ποσοτήτων (πάνω από 8 λίτρα/ημέρα) γιαουρτιού ή/και εμπλουτισμένου γάλακτος (137 – 139). Οι Andersson et al. πράγματι απέδειξαν ότι η φυσιολογική κατανάλωση γάλακτος (~1 λίτρο/ημέρα) φάνηκε να διεγείρει την έκκριση της χολής, ενώ σε άλλες έρευνες τα αρχικά υποχοληστερολαιμικά αποτελέσματα δεν μπόρεσαν να διατηρηθούν μέχρι το τέλος της διάρκειας των έξι εβδομάδων της ερευνητικής περιόδου (141, 142). Τα διφορούμενα αυτά αποτελέσματα οδήγησαν τους Jackson et al. (143) να καταλήξουν στο ότι δεν υπάρχει ερευνητική απόδειξη που να υποστηρίζει τα υποχοληστερολαιμικά αποτελέσματα των προβιοτικών, τουλάχιστον όταν αυτά καταναλώνονται σε φυσιολογικές ποσότητες.

3.1.XII. Ηπατικές νόσοι

Οι σχετιζόμενες με την πρόσληψη αλκοόλ ηπατικές νόσοι παρουσιάζουν άμεση συσχέτιση με τα επίπεδα βακτηριακής ενδοτοξίνης στο πλάσμα. Οι Nanji et al. (144) μελέτησαν τη δράση του L.GG στα επίπεδα πλασματικής ενδοτοξίνης και στην παθολογία του ήπατος σε ποντίκια με χρόνια κατανάλωση αλκοόλης. Η συγκέντρωση πλασματικής ενδοτοξίνης στην ομάδα των ζώων που προσελάμβαναν L.GG ήταν εμφανώς μειωμένη. Η μέση τιμή στην ομάδα ελέγχου ήταν 48,3 pg/ml ενώ στην ομάδα που δόθηκε L.GG τα επίπεδα ενδοτοξίνης πλάσματος ήταν 8,4 pg/ml. Παρατηρήθηκε επίσης ένα αξιοσημείωτα χαμηλότερο ποσοστό εμφάνισης ηπατικής παθολογίας ομάδα που δόθηκε L.GG. Συμπερασματικά λοιπόν, όπως προκύπτει από τα παραπάνω, υπάρχουν ενδείξεις που υποστηρίζουν την χρήση προβιοτικών στην πρόληψη των ηπατικών βλαβών.

4. ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΑ: ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ

Ο όρος πρεβιοτικό εισήχθη για πρώτη φορά από τους Gibson και Roberfroid (152), που αντί του προθέματος pro- χρησιμοποίησαν το πρόθεμα pre-, που σημαίνει προτού. Ως πρεβιοτικά χαρακτηρίζονται τα άπεπτα συστατικά των τροφών (διαιτητικές ίνες) που ασκούν κάποιου είδους ευεργετική βιολογική επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό, ενεργοποιώντας επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και την δραστηριότητα ωφέλιμων μικροοργανισμών που είτε είναι παρόντες στο έντερο είτε εισάγονται σε αυτό κατά την διάρκεια κάποιας θεραπευτικής διαδικασίας (19). Ο ορισμός αυτός συμπίπτει, λίγο ή πολύ, με τον ορισμό των διαιτητικών ινών, με εξαίρεση την ειδικότητα του για συγκεκριμένα είδη (151). Τα πρεβιοτικά υπόκεινται σε ζύμωση από την ωφέλιμη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου, η οποία σχετίζεται με τους οργανισμούς που αναφέρθηκαν παραπάνω ως προβιοτικά. Τα πρεβιοτικά είναι πηγές ενέργειας για την μικροχλωρίδα. Πολλοί μη-αμυλούχοι πολυσακχαρίτες όπως οι πηκτίνες, τα κόμμεα, οι υδατανθρακικές αλκοόλες και ενδογενείς υδατάνθρακες όπως οι mucin και chondroitin sulfate, συνήθως δεν μεταβολίζονται στο στομάχι και περνάνε στο έντερο, ενώ δεν πέπτονται ούτε από την εντερική μικροχλωρίδα. Παρόλα αυτά, δεν μπορούν να θεωρηθούν ως πρεβιοτικά. Πρόσφατα, ο Klahorst (147) συμπεριέλαβε και άλλους υδατάνθρακες ή/και πολυόλες όπως η λακτιτόλη, η μαννιτόλη, η σορβιτόλη και η ξυλιτόλη στην ομάδα των πρεβιοτικών.

Μέχρι στιγμής, τα μόνα πρεβιοτικά για τα οποία υπάρχει επαρκής πληροφόρηση είναι οι φρουκτάνες τύπου ινουλίνης που περιλαμβάνουν την καθαρή ινουλίνη, την ενζυματικά υδρολυμένη ινουλίνη ή ολιγοφρουκτόζη και τους συνθετικούς φρουκτοολιγοσακχαρίτες (148, 149). Η ινουλίνη και η ολιγοφρουκτόζη βρίσκονται σε αξιοσημείωτες ποσότητες σε μια τεράστια ποικιλία φαγώσιμων φρούτων και λαχανικών. Η μέση ημερήσια κατανάλωση έχει υπολογιστεί στα 1 – 4 gr. για τις ΗΠΑ και στα 3 – 11 gr. για την Ευρώπη. Οι κυριότερες πηγές αυτών των ολιγοσακχαριτών είναι το σιτάρι, τα κρεμμύδια, οι μπανάνες, το σκόρδο και τα πράσινά, ενώ χρησιμοποιούνται συχνά ως υποκατάστατα ζάχαρης, ως υποκατάστατα λίπους (η ινουλίνη μόνο) αλλά και ως βελτιωτικά της γεύσης και της υφής κατά την διαδικασία παραγωγής και επεξεργασίας πολλών προϊόντων. Παρακάτω παρατίθενται τα κύρια χαρακτηριστικά των πιο συνηθισμένων ολιγοσακχαριτών που απαρτίζουν την ομάδα των πρεβιοτικών (150).

4.1 ΦΡΟΥΚΤΟ-ΟΛΙΓΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Με τον όρο φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες αναφερόμαστε τυπικά σε ολιγοσακχαρίτες μικρής αλύσου που περιλαμβάνουν D-φρουκτόζη και D-γλυκόζη και απαρτίζονται από 3 – 5 μονάδες μονοσακχαρίτη. Οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες, σε βιομηχανική κλίμακα, παρασκευάζονται από σουκρόζη με την βοήθεια ενός ενζύμου (μύκητα), της φρουκτοζυλτρανσφεράσης. Είναι ανθεκτικοί στην πέψη που συντελείται στο άνω γαστρεντερικό σύστημα και δρουν ως ενεργοποιητές της ανάπτυξης των μικροοργανισμών του είδους *Bifidobacterium* στο παχύ έντερο (186, 157).

4.2. ΙΝΟΥΛΙΝΕΣ

Οι ινουλίνες ανήκουν σε μια τάξη υδατανθράκων, γνωστών ως φρουκτάνες και αναφέρονται σε μια ομάδα ολιγοσακχαριτών που προκύπτουν με φυσικό τρόπο, περιέχουν φρουκτόζη και ενεργοποιούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του είδους *Bifidobacterium* στο παχύ έντερο. Προέρχονται κυρίως από τις ρίζες του ραδικιού και της αγκινάρας. Περιλαμβάνουν κυρίως μονάδες φρουκτόζης ενώ ως τελικό μόριο έχουν τυπικά ένα μόριο γλυκόζης. Ο δεσμός μεταξύ των μονάδων φρουκτόζης στις ινουλίνες είναι ένας βήτα – (2-1) γλυκοζιδικός δεσμός, ενώ ο μέσος βαθμός πολυμερισμού τους είναι 10 με 12 (157, 186).

4.3. ΙΣΟΜΑΛΤΟ-ΟΛΙΓΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Οι ισομαλτο-ολιγοσακχαρίτες αποτελούνται από ένα μείγμα ολιγομερών γλυκόζης συνδεδεμένων με άλφα –D- (1-6) δεσμούς και παράγονται από διάφορες ενζυματικές διαδικασίες. Ενεργοποιούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του είδους *Bifidobacterium* και *Lactobacillus* στο παχύ έντερο και χρησιμοποιούνται ευρέως ως διαιτητικά συμπληρώματα και συστατικά εμπλουτισμένων τροφίμων (188).

4.4. ΛΑΚΤΙΤΟΛΗ

Η λακτιτόλη είναι ένας δισακχαρίτης ανάλογος της λακτουλόζης. Η φαρμακευτική του χρήση σχετίζεται με την θεραπεία της δυσκοιλιότητας και της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας ενώ παράλληλα χρησιμοποιείται και ως πρεβιοτικό. Είναι ιδιαίτερα ανθεκτικός στην διαδικασία πέψης που επιτελείται στο ανώτερο τμήμα του γαστρεντερικού συστήματος, ενώ υπόκειται σε ζύμωση από έναν περιορισμένο αριθμό βακτηρίων του παχέος εντέρου, προκαλώντας έτσι αύξηση της βιομάζας των μικροοργανισμών των ειδών *bifidobacterium* και *lactobacilli* στο κόλον (187).

4.5. ΛΑΚΤΟΣΟΥΚΡΟΖΗ

Η λακτοσουκρόζη είναι ένας τρισακχαρίτης αποτελούμενος από D-γαλακτόζη, D-γλυκόζη και D-φρουκτόζη, ανθεκτικός στην πέψη στο στομάχι και στο λεπτό έντερο. Αξιοποιείται εκλεκτικά από ορισμένα εντερικά είδη *Bifidobacterium* και προάγει σημαντικά την ανάπτυξη αυτών των βακτηρίων στο κόλον. Συνεπώς, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η λακτοσουκρόζη δρα στην εντερική μικροχλωρίδα ως ένας παράγοντας ανάπτυξης των ειδών *Bifidobacterium* και χρησιμοποιείται ευρύτατα ως διαιτητικό συμπλήρωμα και ως συστατικό εμπλουτισμένων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένου και του γιαουρτιού (186, 189).

4.6. ΛΑΚΤΟΥΛΟΖΗ

Η λακτουλόζη είναι ένας ημισυνθετικός δισακχαρίτης που αποτελείται από τα σάκχαρα D-λακτόζη και D-φρουκτόζη. Τα σάκχαρα στην λακτουλόζη συνδέονται με έναν βήτα-γλυκοζιτικό δεσμό, κάτι το οποίο καθιστά το δισακχαρίτη αυτό ανθεκτικό στην υδρόλυση από τα πεπτικά ένζυμα του ανθρώπου. Παρόλα αυτά, η λακτουλόζη μεταβολίζεται από έναν περιορισμένο αριθμό κολονικών βακτηρίων, κάτι το οποίο μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στο οικοσύστημα του παχέος εντέρου προς όφελος των συγκεκριμένων βακτηρίων (*lactobacilli* και *bifidobacteria*) και σε τελική ανάλυση προς όφελος της συνολικής υγείας του οργανισμού. Χρησιμοποιείται συχνά ως φάρμακο για την θεραπεία της δυσκοιλιότητας και της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας καθώς και ως διαιτητικό συμπλήρωμα, ενώ η χρήση του ως πρεβιοτικό συμπλήρωμα βρίσκεται ακόμα σε πειραματικό επίπεδο (157, 184, 186).

4.7. ΠΥΡΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

Οι πυροδεξτρίνες αποτελούνται από ένα μείγμα ολιγοσακχαριτών που περιέχουν γλυκόζη και προέρχονται από την υδρόλυση του αμύλου και έχει βρεθεί ότι προάγουν τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων του είδους *Bifidobacterium* στο παχύ έντερο. Είναι ανθεκτικές στην πέψη στο ανώτερο γαστρεντερικό σύστημα και ιδιαίτερα ανεπτυγμένες ως διατροφικά συμπληρώματα.

4.8. ΟΛΙΓΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ ΣΟΓΙΑΣ

Στους ολιγοσακχαρίτες σόγιας συγκαταλέγονται ολιγοσακχαρίτες που απομονώνονται από φασόλια σόγιας καθώς επίσης και από κοινά φασόλια, μπιζέλια και από αρακά. Οι δύο κύριοι ολιγοσακχαρίτες σόγιας είναι ο τρισακχαρίτης ραφινόζη και ο τετρασακχαρίτης σταχιόζη. Η ραφινόζη αποτελείται από ένα μόριο D-γαλακτόζης, ένα μόριο D-γλυκόζης και ένα μόριο D-φρουκτόζης, ενώ η σταχιόζη από δύο μόρια D-γαλακτόζης, ένα μόριο D-γλυκόζης και ένα μόριο D-φρουκτόζης. Και οι δύο προάγουν την ανάπτυξη του είδους *Bifidobacterium* στο παχύ έντερο και χρησιμοποιούνται διεθνώς ως διαιτητικά συμπληρώματα (184, 188).

4.9. ΤΡΑΝΣ-ΓΑΛΑΚΤΟ-ΟΛΙΓΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Είναι ένα μείγμα ολιγοσακχαριτών αποτελούμενων από D-γλυκόζη και D-γαλακτόζη. Παράγονται από την D-λακτόζη μέσω της δράσης του ενζύμου βήτα-γαλακτοζιδάση που απομονώνεται από το *Aspergillus oryzae*. Είναι εξαιρετικά ανθεκτικοί στην διαδικασία πέψης που συντελείται στο ανώτερο τμήμα του γαστρεντερικού συστήματος και ευνοούν την ανάπτυξη των βακτηρίων του είδους *Bifidobacterium* στο παχύ έντερο, ενώ χρησιμοποιούνται και αυτοί ευρύτατα ως συμπληρώματα και συστατικά εμπλουτισμένων τροφίμων (188).

4.10. ΞΥΛΟ-ΟΛΙΓΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Αποτελούνται από ολιγοσακχαρίτες που περιέχουν υπολείμματα ξυλόζης συνδεδεμένα μεταξύ τους με βήτα- (1 →4) δεσμούς. Οι ξυλο-ολιγοσακχαρίτες προέρχονται από την ενζυματική υδρόλυση του πολυσακχαρίτη ξυλάνη ενώ ο βαθμός πολυμερισμού τους κυμαίνεται από 2 –

4. Σε πολλές χώρες (μεταξύ των οποίων η Ιαπωνία και οι Η.Π.Α.) χρησιμοποιούνται ευρέως ως πρεβιοτικά (181, 184).

4.11. Πρεβιοτικά ως βιοθεραπευτικοί παράγοντες

4.11.I. Ευεργετική επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα

Εξαιτίας της β-διαμόρφωσης του ανωμερούς C-2 στα μονομερή της φρουκτόζης, οι φρουκτάνες τύπου ινουλίνης είναι ανθεκτικές στην πέψη που συντελείται στο ανώτερο τμήμα του γαστρεντερικού συστήματος. Επιπροσθέτως, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις, ότι δεν απορροφώνται σχεδόν καθόλου και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται από το κόλον ως τροφή του ενδογενούς βακτηριακού πληθυσμού, παρέχοντας έτσι άμεσα στον οργανισμό ενέργεια και μεταβολικά υποκατάστατα (21). Η ιδέα ότι οι φρουκτάνες τύπου ινουλίνης ζυμώνονται από βακτήρια που αποικίζουν το παχύ έντερο υποστηρίζεται από πολλές *in vitro* (τόσο αναλυτικές όσο και μικροβιολογικές) και *in vivo* έρευνες, οι οποίες, επιπροσθέτως, επιβεβαιώνουν την παραγωγή γαλακτικών και μικρής αλύσου καρβοξυλικών οξέων, ως τελικών προϊόντων της ζύμωσης. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί, σε πολλές *in vivo* έρευνες σε ανθρώπους, πως αυτή η ζύμωση οδηγεί στην επιλεκτική ενίσχυση της ανάπτυξης πληθυσμών του είδους *Bifidobacterium*, κάτι το οποίο καθιστά τις ινουλίνες το κύριο πρωτότυπο πρεβιοτικό (153).

4.11.II. Επίδραση στην απορρόφηση μετάλλων

Μηχανισμοί δράσης

Έχει βρεθεί ότι οι άπεπτοι υδαάνθρακες (διαιτητικές ίνες), εξαιτίας της τάσης που έχουν να δεσμεύουν τα μεταλλικά στοιχεία, μειώνουν την απορρόφηση των μετάλλων από το λεπτό έντερο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, τα μέταλλα που δεν απορροφήθηκαν από το λεπτό έντερο να φτάνουν, τελικά, στο κόλον όπου και απελευθερώνονται από το υδατανθρακικό σύμπλεγμα και απορροφώνται (21, 157). Η κύρια επίδραση των πρεβιοτικών στην αυξημένη απορρόφηση των μετάλλων από το έντερο πιθανότατα σχετίζεται με τον ρόλο

τους ως "κολονική τροφή". Αυτό σημαίνει πως λειτουργούν ως υπόστρωμα για την εντερική μικροχλωρίδα, ενισχύοντας με έναν, αδιευκρίνιστο ακόμα, τρόπο τον ρυθμό ζύμωσης, την παραγωγή λιπαρών οξέων μικρής αλύσου και την σπλαχνική οξειδωση (157). Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί, ότι η αυξημένη συγκέντρωση καρβοξυλικών οξέων που προκύπτουν από την κολονική ζύμωση των άπεπτων υδατανθράκων διευκολύνει σημαντικά την κολονική απορρόφηση των μετάλλων, ειδικότερα των ιόντων ασβεστίου και μαγνησίου. Επιπροσθέτως, ανεξάρτητα από τα δεσμευμένα σε κάποιο υδατανθρακικό σύμπλεγμα μέταλλα, κάποιοι άπεπτοι υδατάνθρακες (π.χ. οι φρουκτάνες τύπου ινουλίνης) έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν την απορρόφηση και την ομοιοστάση των μετάλλων μέσω μιας ωσμωτικής διαδικασίας που έχει σαν αποτέλεσμα την μεταφορά νερού στο παχύ έντερο και κατά συνέπεια την αύξηση του όγκου του υγρού στο οποίο μπορούν να διαλυθούν τα μέταλλα αυτά. Ακόμα, οι υδατάνθρακες αυτοί, που έχουν υποστεί εκτεταμένη ζύμωση στο κόλον, οξειδώνουν το περιεχόμενο του παχέως εντέρου και, κατά συνέπεια, αυξάνουν την συγκέντρωση των ιονισμένων μετάλλων, και ιδιαίτερα του ασβεστίου και του μαγνησίου, κατάσταση που ευνοεί την παθητική διάχυση. Τέλος, έρευνες που έγιναν σε ασθενείς με ιλεοστομία απέδειξαν ότι οι φρουκτάνες τύπου ινουλίνης δεν προκαλούν μείωση της απορρόφησης των μετάλλων από το λεπτό έντερο (154).

Αναφέρθηκε, ότι οι φρουκτάνες τύπου ινουλίνης ενισχύουν την απορρόφηση του ασβεστίου και του μαγνησίου σε αναπτυσσόμενα ποντίκια και αυξάνουν την ιοντική ισορροπία μεταξύ σιδήρου και ψευδαργύρου, ενώ δεν παρουσιάζουν καμία αξιοσημείωτη επίδραση στην βιοδιαθεσιμότητα του χαλκού (155). Σε πιο πρόσφατες μελέτες που έγιναν σε ανθρώπους, επιβεβαιώθηκαν τα ευεργετικά αποτελέσματα της ινουλίνης και της ολιγοφρουκτόζης στην απορρόφηση και την ομοιοστάση του διαιτητικού ασβεστίου αλλά όχι και του σιδήρου, του μαγνησίου ή του ψευδαργύρου. Στην πρώτη έρευνα που δημοσιεύτηκε, 9 άντρες (μέση ηλικία : $21,5 \pm 2,5$ έτη) που λάμβαναν 850 mg Ca/ημέρα και ένα διαιτητικό συμπλήρωμα 40g ινουλίνης/ημέρα παρουσίασαν μια σημαντική αύξηση της απορρόφησης ($\pm 12\%$) και της ομοιοστάσης (100 mg/ημέρα) του ασβεστίου χωρίς καμία αξιοσημείωτη μεταβολή στην ουρική απέκριση (155). Στην δεύτερη έρευνα, η

ομοιόσταση του ασβεστίου 12 αντρών ηλικίας από 15 έως 18 ετών, που κατανάλωναν 16,8 g ολιγοφρουκτόζης/ημέρα, αυξήθηκε κατά 11% ($P = 0,09$), χωρίς καμία αξιοσημείωτη μεταβολή στην ουρική απέκκριση (156).

Δοσοεξαρτώμενη σχέση

Έχει βρεθεί, ότι η σχέση μεταξύ των πρεβιοτικών και της αυξημένης απορρόφησης μεταλλικών στοιχείων από το παχύ έντερο είναι δοσοεξαρτώμενη (157). Αύξηση στην περιεκτικότητα της διαίτας σε ολιγοφρουκτόζη από 1% σε 5% δεν φάνηκε να έχει καμία επίδραση στην απορρόφηση του ασβεστίου, του φωσφόρου ή του μαγνησίου, σε ποντίκια, μετά από μία εβδομάδα (158). Ωστόσο, μετά το πέρας 3 εβδομάδων, η απορρόφηση του μαγνησίου παρουσίασε αύξηση από $2,10 \pm 0,29$ σε $3,01 \pm 0,35$ mg/ημέρα (158). Συγκρίνοντας δίαιτες με διαφορετική επί τοις % περιεκτικότητα σε ινουλίνη (0%, 5%, 10% και 20% αντίστοιχα) αποδείχτηκε μια δοσοεξαρτώμενη μείωση του pH στο τυφλό έντερο και μια, αντίστοιχα, δοσοεξαρτώμενη αύξηση του βάρους αλλά και της δεξαμενής λιπαρών οξέων μικρής αλύσου του τυφλού εντέρου αλλά και της απορρόφησης του μαγνησίου και του ασβεστίου. Επίσης, μια δοσοεξαρτώμενη αύξηση των συγκεντρώσεων λιπαρών οξέων μικρής αλύσου στο τυφλό παρατηρήθηκε και για συγκεντρώσεις ινουλίνης <10 % (157), ενώ συγκεντρώσεις ινουλίνης της τάξης του 20% είχαν σαν αποτέλεσμα μείωση της συγκέντρωσης λιπαρών οξέων και μαγνησίου. Τέλος, καμία περαιτέρω αύξηση των συγκεντρώσεων ασβεστίου ή φωσφόρου, στο τυφλό, δεν παρατηρήθηκε με λήψη ακόμα μεγαλύτερης ποσότητας ινουλίνης (159, 160). Ο Roberfroid και οι συνεργάτες του (161), συνοψίζοντας τα αποτελέσματα των ερευνών που έγιναν σε ανθρώπους, σχετικά με την επίδραση διαφορετικών δόσεων ινουλίνης και ολιγοφρουκτόζης στον οργανισμό, κατέληξαν στο ότι δεν υπήρχε δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ ποσότητας και αποτελέσματος για δόσεις $> 4 - 20$ gr.

4.11.III. Επίδραση στο μεταβολισμό λιπιδίων

Η υποτριγλυκεριδαιμική επίδραση των άπεπτων υδατανθράκων, όπως οι φουκτάνες τύπου ινουλίνης και η ολιγοφρουκτόζη, έχει διαπιστωθεί και περιγραφεί από πολλές έρευνες, τόσο σε ζώα (164 –167) όσο και σε ανθρώπους (168 – 170). Σε πολλές μελέτες που έγιναν σε ποντίκια διαπιστώθηκε επανειλημμένως μια μείωση των τριγλυκεριδίων ορού (τόσο στην μεταγευματική κατάσταση όσο και σε κατάσταση νηστείας), ενώ στην περίπτωση υγιών ανθρώπων, το μόνο που μετρήθηκε ήταν το επίπεδο των τριγλυκεριδίων ορού σε κατάσταση νηστείας το οποίο και παρουσιάστηκε μειωμένο σε μία μόνο έρευνα. Στοιχεία σχετικά με υπερτριγλυκεριδαιμικούς ασθενείς δεν έχουν δημοσιευτεί ακόμα, ενώ οι πληροφορίες για την επίδραση των φρουκτανών τύπου ινουλίνης στην χοληστερολαιμία ή την λιποπρωτεϊναιμία είναι σπάνιες (171). Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι υδατάνθρακες αυτοί επιδρούν θετικά στην μείωση των λιπιδίων του ορού δεν έχει ακόμα προσδιοριστεί ευκρινώς. Τα τριγλυκερίδια που προσλαμβάνονται μέσω της τροφής μεταφέρονται από την λέμφο στο αίμα ως χυλομικρά και στη συνέχεια υδρολύονται με την βοήθεια του ενζύμου λιποπρωτεϊνική λιπάση και μπορεί να φτάσουν στο ήπαρ ως υπολείμματα χυλομικρών. Το ήπαρ με τη σειρά του, διαδραματίζει ένα ιδιαίτερα αποφασιστικό ρόλο στην ομοιοστάση των πλούσιων σε τριακυλογλυκερόλη λιποπρωτεϊνών μιας και μπορεί να συνθέτει και να εκκρίνει VLDL. Λόγω του ότι τα νεοσυντιθέμενα λιπαρά οξέα διοχετεύονται συνήθως στην δεξαμενή της VLDL, η λιπογενική δραστηριότητα του ήπατος είναι ένας καθοριστικός παράγοντας του ηπατικού κλάσματος τριακυλογλυκερόλης – VLDL (172 – 175). Μεταξύ των ενζύμων – κλειδιών που ελέγχουν την λιπογένεση η συνθετάση λιπαρών οξέων είναι η πιο επιρρεπής στην επίδραση των θρεπτικών συστατικών και των ορμονών (176). Έχει αποδειχτεί, επίσης, τόσο in vivo (178, 179) όσο και in vitro (180 – 182) ότι η ινσουλίνη και η γλυκόζη είναι σημαντικοί ρυθμιστικοί παράγοντες της σύνθεσης λιπαρών οξέων και τριακυλογλυκερόλης.

Μηχανισμοί δράσης

Δίνοντας σε ποντίκια μια δίαιτα εμπλουτισμένη με ολιγοφρουκτόζη (σε ποσοστό 10% της δίαιτας) παρατηρήθηκε μια αξιοσημείωτη μείωση των συγκεντρώσεων τριακυλογλυκερόλης και φωσφολιπιδίων ορού αλλά καμία

μεταβολή στη συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (183 – 185). Κάτι τέτοιο οφείλεται, σχεδόν αποκλειστικά, στη μείωση της συγκέντρωσης της λιποπρωτεΐνης VLDL στο πλάσμα (184), γεγονός που απορρέει μάλλον από την μειωμένη ηπατική σύνθεση τριακυλογλυκερόλης παρά από τον αυξημένο καταβολισμό λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριακυλογλυκερόλη (186). Ηπατοκύτταρα που απομονώθηκαν από ποντικούς που τρέφονταν με ολιγοφρουκτόζη, έδειξαν ελαφρώς μειωμένη ικανότητα εστεροποίησης του [¹⁴C] παλμιτικού σε τριακυλογλυκερόλη αλλά πολύ μεγαλύτερη μείωση (της τάξης του 40%) στην ικανότητα σύνθεσης τριακυλογλυκερόλης από [¹⁴C] ακετυλικό οξύ, σε σχέση με τους ποντικούς που χρησιμοποιήθηκαν ως control (184, 186). Τα στοιχεία αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση πως η μειωμένη de novo λιπογένεση στο ήπαρ, μέσω μιας συνεργιστικής μείωσης της δραστηριότητας όλων των λιπογενικών ενζύμων, είναι ο καθοριστικός παράγοντας της μειωμένης έκκρισης VLDL τριακυλογλυκερόλης στα τρεφόμενα με φρουκτάνες ποντίκια. Σε μια πιο πρόσφατη έρευνα, αποδείχτηκε πως, όταν προστέθηκε ολιγοφρουκτόζη σε μια δίαιτα που αποτελούνταν από 10% λαρδί, 4% καλαμποκέλαιο και 0,15% χοληστερόλη για 3 εβδομάδες, η μεταγευματική τριγλυκεριδαίμια μειώθηκε κατά 50%, ενώ παρεμποδίστηκε η αύξηση της συγκέντρωσης της ελεύθερης χοληστερόλης ορού. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν πως η ολιγοφρουκτόζη είναι επίσης ικανή να προκαλέσει μείωση των συγκεντρώσεων τριακυλογλυκερόλης ορού, μέσω μιας εξτρα-ηπατικής διαδικασίας, ενισχύοντας τον καταβολισμό των πλούσιων σε τριακυλογλυκερόλη λιποπρωτεϊνών (187).

Για την ερμηνεία της πιθανής επίδρασης των φρουκτανών τύπου ινουλίνης στην τροποποίηση του μεταβολισμού της τριακυλογλυκερόλης, πιθανολογείται η ύπαρξη δύο διαφορετικών επιδράσεων. Η πρώτη επίδραση είναι η μείωση των συγκεντρώσεων γλυκόζης ή ινσουλίνης, μιας και διαιτητική ρύθμιση της λιπογένεσης σχετίζεται συχνά με τέτοιες φυσιολογικές αλλαγές. Πράγματι, η ενεργοποίηση των λιπογενικών ενζύμων από την γλυκόζη, που προκύπτει μέσω μιας αυξημένης γονιδιακής μεταγραφής, ελέγχεται από την ινσουλίνη (176). Η συσχέτιση αυτή έχει αποδειχθεί και για ανθεκτικούς υδατάνθρακες που, σε ποντικούς, προκαλούν μείωση της τριακυλογλυκερόλης ορού, μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου σύνθεσης

λιπαρών οξέων κατά 20% και, κατά συνέπεια, μείωση των επιπέδων μεταγευματικής ινσουλιναιμίας (177). Η επίδραση των φρουκτανών τύπου ινουλίνης στην γλυκαιμία και την ινσουλιναιμία δεν είναι, ακόμα, πλήρως κατανοητή και φαίνεται πως εξαρτάται από διάφορες καταστάσεις (π.χ μεταγευματική κατάσταση ή κατάσταση νηστείας, διαβήτη κτλ). Παρόλα αυτά υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν ότι η ινουλίνη (18 g/ημέρα) μπορεί να μειώσει τόσο την ολική όσο και την LDL χοληστερόλη ορού σε ελαφρώς υπερχοληστερολαιμικά άτομα (178). Η δεύτερη επίδραση είναι η παραγωγή στο παχύ έντερο καρβοξυλικών οξέων μικρής αλυσού, τα οποία έχουν σαν αποτέλεσμα αύξηση των συγκεντρώσεων ακετόνης και προπιονικού οξέος, με το προπιονικό να αναστέλλει την σύνθεση λιπαρών οξέων και την ακετόνη να είναι ένα λιπογενικό υπόστρωμα.

4.11.IV. Ανακούφιση από την δυσκοιλιότητα, λόγω πιθανών επιδράσεων στο εντερικό περιεχόμενο και στην κινητικότητα του εντέρου.

4.11.V. Αντιμετώπιση της διάρροιας, ιδιαίτερα όταν αυτή σχετίζεται με εντερικές λοιμώξεις (21).

Η πιθανή αντιμικροβιακή δραστηριότητα των πρεβιοτικών μπορεί να οφείλεται στην ευεργετική επίδραση που ασκούν στην ανάπτυξη βακτηρίων του είδους *Bifidobacterium* και *Lactobacilli*. Τα βακτήρια αυτά ενισχύουν την αμυντική ικανότητα του εντερικού επιθηλίου έναντι παθογόνων βακτηρίων, παράγουν αντιμικροβιακά υποκατάστατα και ενισχύουν την εξειδικευμένη και μη-εξειδικευμένη αντιγονική ανταπόκριση (181, 182).

4.11.VI. Μείωση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης

Η οστεοπόρωση είναι μια από τις επικρατέστερες μορφές οστεοπάθειας με ιδιαίτερα σοβαρή επιδημιολογική σημασία. Ένας από τους παράγοντες κινδύνου είναι η ανεπαρκής πρόσληψη ασβεστίου, ενώ από την άλλη πλευρά, η υπερβολική πρόσληψη μπορεί να προκαλέσει μειωμένη απορροφητικότητα και των άλλων μετάλλων και για αυτό πρέπει να αποφεύγεται (21, 157). Έχει αποδειχθεί, ότι συστατικά που ενισχύουν την

απορρόφηση των μετάλλων, όπως οι φρουκτάνες τύπου ινουλίνης, μπορούν να βελτιώσουν την υγεία των οστών εάν βέβαια είναι ικανές να βελτιώσουν την βιοδιαθεσιμότητα του ασβεστίου και εάν αυτή η λειτουργική επίδραση συνοδεύεται και από περαιτέρω φυσιολογικές αλλαγές στη μέγιστη οστική πυκνότητα και στην περιεκτικότητα των οστών σε μέταλλα (21, 179, 184). Ο ακριβής μηχανισμός δράσης έχει περιγραφεί παραπάνω.

4.11.VII. Μείωση του κινδύνου εμφάνισης αθηροσκληρωτικών καρδιαγγειακών νοσημάτων, σχετιζόμενων με δυσλιπιδαιμία, υπερτριγλυκεριδία και ινσουλινοαντίσταση (21).

Ο πιθανολογούμενος μηχανισμός επίδρασης των πρεβιοτικών στην μείωση των επιπέδων τριγλυκεριδίων σε κάποια άτομα δεν είναι ακόμα σαφής, αν και, όπως εκτενώς αναφέρθηκε παραπάνω, υπάρχουν ενδείξεις που υποστηρίζουν ότι τα πρεβιοτικά πιθανόν μειώνουν την ηπατική de novo σύνθεση τριγλυκεριδίων. Επίσης υπάρχουν δεδομένα που μαρτυρούν ότι τα πρεβιοτικά ασκούν κάποια πιθανή επίδραση στην μείωση των επιπέδων τόσο της ολικής όσο και της LDL χοληστερόλης, αν και στην περίπτωση αυτή ο μηχανισμός δράσης δεν έχει καθοριστεί ευκρινώς (179, 181, 184, 185).

4.11.VIII. Μείωση του κινδύνου εμφάνισης παχυσαρκίας και ΣΔ τύπου II, καταστάσεις που, ως γνωστό, σχετίζονται με την ινσουλινοαντίσταση (21).

4.11.IX. Πιθανή αντικαρκινική δραστηριότητα

Η πιθανή αντικαρκινική δραστηριότητα των πρεβιοτικών δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητή, φαίνεται όμως τι αποδίδεται, εν μέρει, στην πιθανή αντικαρκινική δραστηριότητα του βουτυρικού οξέος. Αυτό, μαζί με άλλα λιπαρά οξέα μικρής αλύσου, παράγεται από βακτηριακή ζύμωση των ποικίλων πρεβιοτικών ολιγοσακχαριτών στο κόλον. Όπως καταδεικνύεται από ορισμένες έρευνες, το βουτυρικό πιθανότατα συμβάλλει στην αναχαίτιση της κυτταρικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης καθώς επίσης και στην επαναρύθμιση της απόπτωσης, τρεις δραστηριότητες οι οποίες εξηγούν την

πιθανή αντικαρκινική δραστηριότητα των πρεβιοτικών. Οι πρεβιοτικοί ολιγοσακχαρίτες έχουν, επίσης, πολλές φορές, σαν αποτέλεσμα αύξηση των συγκεντρώσεων του ασβεστίου και του μαγνησίου στο κόλον, κάτι το οποίο φαίνεται να συμβάλλει αποφασιστικά στον έλεγχο του ρυθμού κυτταρικής ανάπτυξης. Ειδικότερα, η αυξημένη συγκέντρωση ασβεστίου στο κόλον πιθανότατα μπορεί να βοηθήσει στον έλεγχο σχηματισμού αδιάλυτης χολής ή αλάτων λιπαρών οξέων και να δράσει, με αυτό τον τρόπο, προστατευτικά έναντι της καταστροφικής επίδρασης της χολής και των λιπαρών οξέων στα κύτταρα του παχέος εντέρου. Τα πρεβιοτικά, επίσης, προάγουν την ανάπτυξη βακτηρίων του είδους *Bifidobacterium* και *Lactobacilli* στο παχύ έντερο ενώ δεδομένα από *in vitro* έρευνες και δοκιμές σε ζώα υποδηλώνουν ότι τα βακτήρια αυτά μπορούν να δεσμεύσουν και να απενεργοποιήσουν ορισμένα καρκινογόνα, να αναχαιτίσουν άμεσα την ανάπτυξη όγκων ή ακόμα και την δράση ορισμένων βακτηρίων που έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν προκαρκινογόνα σε καρκινογόνα (21, 183).

Πίνακας VII. Ισχύς των ενδείξεων βελτίωσης σωματικών λειτουργιών από προβιοτικά και πρεβιοτικά

Λειτουργικές επιδράσεις	Ισχύς ένδειξης	
	Προβιοτικά	Πρεβιοτικά
Δυσανοχή λακτόξης	Ισχυρή (22,190,191)	Άγνωστη
Ενίσχυση ανοσ/κού	Μικρή (23, 197, 198)	Άγνωστη
Μεταλ/γένεση εντερικών λαχνών	Μικρή (25, 199, 200)	Άγνωστη
Υποχοληστερολαιμία	Καμία (201)	Μικρή (178)
Υπολιπιδαιμία	Άγνωστη (201)	Έντονη (143, 192-194)
Εντερική χλωρίδα	Μικρή (200)	Ισχυρή (149, 192, 195)
Βιοδιαθεσιμότητα ασβεστίου	Άγνωστη	Έντονη (156, 196)

Πίνακας VIII. Ισχύς των ενδείξεων μειωμένου κινδύνου νόσησης από προβιοτικά και πρεβιοτικά

	Ισχύς ένδειξης	
Μείωση εμφάνισης νοσηρών καταστάσεων	Προβιοτικά	Πρεβιοτικά
Διάρροια	Μεγάλη (202 - 205)	Άγνωστη
Δυσκοιλιότητα	Άγνωστη	Μεγάλη (206, 207)
Καρκίνος παχ. εντέρου	Μικρή (199, 200, 208))	Μικρή (209, 210, 208, 211)
Οστεοπόρωση	Άγνωστη	Άγνωστη
Χρόνιες παθήσεις σχετιζόμενες με λιπίδια	Πιθανώς καμία μείωση (207)	Άγνωστη

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι πολλά από τα ευεργετικά αποτελέσματα των προ- και πρεβιοτικών, που αναφέρθηκαν παραπάνω και σχετίζονται με την βελτίωση των οργανικών λειτουργιών του οργανισμού καθώς και την μείωση του κινδύνου νόσησης από συγκεκριμένες ασθένειες, προσομοιάζουν πολύ των ωφέλιμων επιδράσεων που αποδίδονται στο ανθρώπινο γάλα. Κάτι τέτοιο αποδεικνύεται ιδιαίτερα σημαντικό, κυρίως σε ότι αφορά στη διατροφή των νεογνών, μιας και ανοίγει τον δρόμο για την χρήση των προ- και πρεβιοτικών στις νεογνικές φόρμουλες γάλακτος, προκειμένου αυτές να προσεγγίζουν όλο και περισσότερο τις ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά του μητρικού γάλακτος. Για τον λόγο αυτό κρίνεται απαραίτητο, στο σημείο αυτό, να γίνει μια μικρή αναφορά στην σύσταση και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του μητρικού γάλακτος.

Οι επιτροπές Διατροφής της Αμερικάνικης Ακαδημίας Παιδιατρικής και της Καναδικής Παιδιατρικής Κοινότητας συστήνουν ανεπιφύλακτα την σίτιση με μητρικό γάλα για τα τελειόμηνα νεογνά (212, 213). Το μητρικό γάλα

συστήνεται ως η αποκλειστική πηγή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών για την σίτιση των τελειόμηνων νεογνών, κατά την διάρκεια των έξι πρώτων μηνών μετά την γέννηση τους, ενώ προτείνεται η συνέχιση της χορήγησης του, σε συνδυασμό και με την χρήση στερεών τροφών, τουλάχιστον για τον πρώτο χρόνο (212, 213). Οι συστάσεις αυτές για την χρήση του μητρικού γάλακτος προκύπτουν ως συνέπεια της αδιαμφισβήτητης πλέον γνώσης μας σχετικά με τις ευεργετικές επιδράσεις του στην ανάπτυξη, την ωρίμανση αλλά και την λειτουργικότητα του επιθηλίου, του ανοσοποιητικού, του νευρικού αλλά και του γαστρεντερικού συστήματος (214).

5. ΣΥΣΤΑΣΗ ΜΗΤΡΙΚΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Είναι πολύ σημαντικό να κατανοήσουμε την μοναδικότητα των συστατικών του μητρικού γάλακτος. Πολλά από τα συστατικά του διαδραματίζουν διπλό ρόλο δρώντας από τη μια ως πηγές ενέργειας και θρεπτικών συστατικών και προάγοντας από την άλλη την λειτουργικότητα του γαστρεντερικού συστήματος και την άμυνα του ίδιου του οργανισμού. Το μητρικό γάλα είναι γνωστό για την αξιοσημείωτη διαφοροποίηση της σύστασης του, μια διαφοροποίηση που εξυπηρετεί, κάθε φορά, τις συγκεκριμένες ανάγκες του εκάστοτε νεογνού (215).

Πρωτεΐνη

Κατά την διάρκεια των πρώτων λίγων εβδομάδων μετά τον τοκετό, η συνολική περιεκτικότητα σε άζωτο, του γάλακτος γυναικών που κυοφορούν πρόωρα νεογνά είναι μεγαλύτερο συγκριτικά με αυτό γυναικών που κυοφορούν τελειόμηνα νεογνά. Συνήθως, μετά τις πρώτες εβδομάδες, η συνολική περιεκτικότητα αζώτου και στα δύο γάλατα μειώνεται και φτάνει εξίσου στα επίπεδα αυτού που αποκαλούμε "ώριμο γάλα" (218, 219). Περίπου το 20% της συνολικής περιεκτικότητας σε άζωτο είναι με την μορφή μη πρωτεϊνικών αζωτούχων συστατικών, όπως ελεύθερων αμινοξέων και ουρίας, σε αντίθεση με το αγελαδινό γάλα που περιέχει μόλις 5% μη πρωτεϊνικού αζώτου (220, 221). Ο μέσος ρυθμός απορρόφησης του μη πρωτεϊνικού

αζώτου, όπως υπολογίστηκε από μεθόδους σταθερών ισοτόπων, κυμαίνεται μεταξύ 13 και 43% (222, 223).

Η ποιότητα της πρωτεΐνης, ή η αναλογία καζεΐνης και πρωτεϊνών του ορού του ανθρώπινου γάλακτος διαφέρει σημαντικά από αυτή του αγελαδινού (30% καζεΐνη και 70% πρωτεΐνες ορού έναντι 82% καζεΐνης και 18% πρωτεϊνών ορού, αντίστοιχα) (221). Οι καζεΐνες, είναι μια ομάδα πρωτεϊνών ελάχιστα διαλυτών σε οξικά μέσα, ενώ οι πρωτεΐνες ορού παραμένουν σε διάλυση ακόμα και μετά την οξειδωτική καθίζηση. Γενικά, οι διαλυτές πρωτεΐνες στο κλάσμα του ορού του γάλακτος πέπτονται αρκετά γρηγορότερα και τείνουν να διευκολύνουν την ταχύτερη γαστρική κένωση (224). Το κλάσμα των πρωτεϊνών του ορού του γάλακτος προκαλεί μικρότερες συγκεντρώσεις φαιτυλαλάνης, τυροσίνης και μεθειονίνης και υψηλότερες συγκεντρώσεις ταυρίνης, σε σχέση με το κλάσμα καζεϊνών του γάλακτος (225 – 228). Ο τύπος των πρωτεϊνών που περιέχονται στο κλάσμα του ορού γάλακτος διαφέρει σημαντικά στο ανθρώπινο και στο αγελαδινό γάλα. Η λακτοφερίνη, η λυσοζύμη και η εκκριτική ανοσοσφαιρίνη A (sIgA) είναι εξειδικευμένες ανθρώπινες πρωτεΐνες ορού που σχετίζονται με την άμυνα του οργανισμού (229 – 231) και οι οποίες, εξαιτίας της ανθεκτικότητάς τους στα πρωτεολυτικά ένζυμα, δρουν ως πρώτη γραμμή άμυνας, προστατεύοντας το γαστρεντερικό τμήμα. Αυτές οι τρεις “αμυντικές” πρωτεΐνες απουσιάζουν από το αγελαδινό γάλα, όπου η κύρια πρωτεΐνη του ορού είναι η β-λακτογλοβουλίνη (221).

Λιπίδια

Τα λιπίδια του ανθρώπινου γάλακτος είναι υπεύθυνα περίπου για το 50% της συνολικής θερμιδικής του απόδοσης και είναι αυτά που διευκολύνουν, εν γένει, την καλύτερη πέψη και απορρόφηση του λίπους (215, 233). Οι περισσότεροι παραγωγοί νεογνικών φόρμουλων γάλακτος έχουν προσπαθήσει, κατά καιρούς, να προσαρμόσουν το μείγμα των λιπιδίων που χρησιμοποιούν, ούτως ώστε να μιμηθούν κατά το δυνατό πιο πιστά την απορρόφηση λίπους στο ανθρώπινο γάλα. Παρόλα αυτά, το μείγμα των λιπαρών οξέων στις φόρμουλες

αυτές διαφέρει του ανθρώπινου γάλακτος, περιέχοντας μεγαλύτερες ποσότητες λιπαρών οξέων μέσης αλύσου.

Από όλα τα μακροθρεπτικά συστατικά του μητρικού γάλακτος, το λίπος, ως συστατικό, εμφανίζει την μεγαλύτερη ετερογένεια (234). Η περιεκτικότητα του μητρικού γάλακτος σε λίπος αυξάνει λίγο κατά την διάρκεια της περιόδου θηλασμού, αλλάζει κατά την διάρκεια της ημέρας και ποικίλει από μητέρα σε μητέρα (235) ενώ δεν επηρεάζεται από την δίαιτα αλλά από την σωματική σύσταση της μητέρας (236, 237). Τέλος, το μητρικό γάλα περιέχει αραχιδονικό οξύ (20:4ω-6) και δοκοσαεξανοϊκό οξύ (22:6ω-3), που είναι παράγωγα του λινολειακού και λινολενικού οξέος και σχετίζονται λειτουργικά με την ανάπτυξη και την όραση (238 – 240).

Υδατάνθρακες

Η υδατανθρακική σύσταση του μητρικού γάλακτος είναι ιδιαίτερα σημαντική τόσο εξαιτίας του ρόλου της ως διατροφικής πηγής λακτόζης, όσο και εξαιτίας της παρουσίας των ολιγοσακχαριτών. Αν και πολλές μελέτες σε τελειόμηνα νεογνά αποκαλύπτουν την ύπαρξη στα κόπρανα μιας πολύ μικρής αναλογίας λακτόζης που δεν απορροφήθηκε, η παρουσία της θεωρείται ως φυσιολογική συνέπεια της χορήγησης μητρικού γάλακτος (241, 242). Οι ολιγοσακχαρίτες είναι υδατανθρακικά πολυμερή και γλυκοπρωτεΐνες που, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω στην αναφορά μας στα πρεβιοτικά, διαδραματίζουν εξέχοντα ρόλο στην άμυνα του οργανισμού και ιδιαίτερα αυτού των νεογνών (243).

Μεταλλικά στοιχεία

Η συγκέντρωση του ασβεστίου και του φωσφόρου στο μητρικό γάλα είναι σημαντικά μικρότερη συγκριτικά με την περιεκτικότητα του αγελαδινού γάλακτος και των βρεφικών φαρμάκων στα μέταλλα αυτά. Παρόλα αυτά, η βιοδιαθεσιμότητα των παραπάνω μετάλλων είναι πολύ μεγαλύτερη στο μητρικό γάλα μιας και δεσμεύονται σε πεπτόμενες πρωτεΐνες, ενώ υπάρχουν επίσης τόσο σε σύνθετες όσο και σε ιονισμένες καταστάσεις που είναι ήδη βιοδιαθέσιμες (244).

Στο σημείο αυτό, πρέπει να αναφερθεί, πως ενώ οι συγκεντρώσεις ασβεστίου και φωσφόρου παραμένουν σχεδόν σταθερές καθόλη την διάρκεια της περιόδου θηλασμού, οι συγκεντρώσεις κάποιων άλλων μετάλλων, όπως του σιδήρου, του ψευδάργυρου και του χαλκού φθίνουν σταδιακά κατά την διάρκεια του θηλασμού (245, 246). Και ενώ οι συγκεντρώσεις χαλκού και ψευδαργύρου επαρκούν για την κάλυψη των αναγκών του εμβρύου καθόλη την διάρκεια του θηλασμού, η συγκέντρωση του σιδήρου φτάνει μόνο για τους έξι πρώτους μήνες θηλασμού (246, 247).

Βιταμίνες

Η διατροφική κατάσταση της μητέρας και τα αποθέματα βιταμινών στο σώμα της φαίνεται πως είναι οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα του μητρικού γάλακτος σε βιταμίνες. Γενικότερα, αν η μητέρα πάσχει από διάφορου τύπου αβιταμινώσεις αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μειωμένες συγκεντρώσεις των αντίστοιχων βιταμινών στο γάλα της. Κάτι τέτοιο εμφανίζεται συχνότερα στην περίπτωση των υδατοδιαλυτών βιταμινών και πρόκειται για μια αντιστρεπτή κατάσταση που εξομαλύνεται με την χορήγηση διατητικών συμπληρωμάτων στην μητέρα.

5.1. Οφέλη του μητρικού γάλακτος στην υγεία και την γενικότερη κατάσταση του νεογνού

Το μητρικό γάλα περιέχει μια πληθώρα συστατικών που επηρεάζουν την ανάπτυξη, την ωρίμανση και της λειτουργίες του επιθηλίου, του ανοσοποιητικού συστήματος, του νευρικού συστήματος και της γαστρεντερικής οδού. Πολλές έρευνες σε ανθρώπους και ζώα υποδεικνύουν πως το μητρικό γάλα επιδρά στη ανάπτυξη των εντερικών δισακχαριδασών, στη διαπερατότητα του γαστρεντερικού συστήματος και στην αντίσταση σε συγκεκριμένες φλεγμονώδεις νόσους. Παρακάτω περιγράφονται συνοπτικά τα κυριότερα οφέλη από την χορήγηση μητρικού γάλακτος σε νεογέννητα βρέφη.

5.1.1 Γαστρεντερικό σύστημα

Πολλές είναι οι έρευνες που υποστηρίζουν ότι το μητρικό γάλα ρυθμίζει την ανάπτυξη και την λειτουργικότητα της γαστρεντερικής οδού, τόσο κατά την διάρκεια του θηλασμού όσο και αργότερα. Τα κυριότερα ερευνητικά αποτελέσματα που επαληθεύουν αυτούς τους ισχυρισμούς έχουν ως εξής: 1) τα πρόωρα νεογνά που τρέφονται με μητρικό γάλα είναι πιθανότατα περισσότερο ανθεκτικά στην νεκρωτική εντεροκολίτιδα συγκριτικά με αυτά που τρέφονται με τεχνητές φόρμουλες (248), 2) τα νεογνά που θηλάζουν εμφανίζουν λιγότερα κλινικά συμπτώματα εντερικής φλεγμονής κατά την διάρκεια εντερικών λοιμώξεων οξεία μορφής, 3) ο κίνδυνος εντερικής δυσαπορρόφησης (κοιλιοκάκη) εξαιτίας δυσανοχής στην γλουτένη είναι εμφανώς μικρότερος σε βρέφη που θηλάζουν (249), 4) ο κίνδυνος εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου I (250), νόσου Crohn (251), ρευματοειδούς αρθρίτιδας (252) και λεμφώματος (253) σε μεγαλύτερα παιδιά μπορεί να μειωθεί, στην περίπτωση που αυτά είχαν θηλάσει κατά την διάρκεια της νεογνικής τους ζωής.

Παράγοντες του μητρικού γάλακτος που επηρεάζουν το γαστρεντερικό σύστημα

Υπάρχουν τουλάχιστον πέντε λειτουργικές κατηγορίες παραγόντων του ανθρώπινου γάλακτος που επηρεάζουν την ωρίμανση, την εξέλιξη και την λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος. Είναι ορμόνες, παράγοντες ανάπτυξης, νευροπεπτίδια, αντιφλεγμονώδεις παράγοντες και παράγοντες ρύθμισης του ανοσοποιητικού συστήματος (214, 254).

Ορμόνες

Οι ορμόνες του ανθρώπινου γάλακτος περιλαμβάνουν ισομερή προλακτίνης, οξυτοκίνη, αδρενοκορτικοτροπική ορμόνη, ορμόνες ενεργοποίησης του θυρεοειδούς, ορμόνες ανάπτυξης, θυροξίνη, κορτιζόλη και ινσουλίνη. Οι συγκεντρώσεις μάλιστα πολλών από τις παραπάνω ορμόνες, όπως της ινσουλίνης, υπερβαίνουν τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στον ορό.

Παράγοντες ανάπτυξης

Στους παράγοντες ανάπτυξης συγκαταλέγονται ο παράγοντας ανάπτυξης επιθηλίου (epithelial growth factor, EGF, 298), ο παράγοντας ανάπτυξης I (insulin-like growth factor I, IGF-I), ο παράγοντας ανάπτυξης ηπατοκυττάρων (hepatocyte growth factor, 255), λακτοφερρίνη, πολυαμίνες (256) και συγκεκριμένα πεπτίδια μοναδικά στο γάλα (257). Τέλος, μελέτες σε ζώα υποδεικνύουν ότι ορισμένοι παράγοντες μπορεί όχι μόνο να αλληλεπιδρούν με το γαστερντερικό σύστημα, αλλά και να απορροφώνται από την συστηματική κυκλοφορία (257).

Νευροπεπτίδια

Μεταξύ των πεπτιδίων που υπάρχουν στο ανθρώπινο γάλα συγκαταλέγονται η νευροτενσίνη, η σωματοστατίνη και πολλά άλλα που φαίνεται να εμπλέκονται σε διαδικασίες ενεργοποίησης και ενίσχυσης της ανοσολογικής απόκρισης (παραγωγή ανοσοσφαιρίνης Α, ενεργοποίηση των μακροφάγων και των Τ-λεμφοκυττάρων κ.τ.λ.) (258, 259).

Αντιφλεγμονώδεις παράγοντες

Οι αντιφλεγμονώδεις παράγοντες του ανθρώπινου γάλακτος περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικά, ενζυμα που καταλύουν την κταστροφή των μεσολαβητών φλεγμονής και αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες (260, 297)

Παράγοντες ρύθμισης του ανοσοποιητικού συστήματος

Στην κατηγορία αυτή συγκαταλέγονται νουκλεοτίδια, αντισώματα, ισομερή προλακτίνης και κυτοκίνες (261). Τα νουκλεοτίδια αντιπροσωπεύουν το 2 – 5 % του μη-πρωτεϊνικού αζώτου στο ανθρώπινο γάλα και επιδρούν σε μια μεγάλη ποικιλία μεταβολικών λειτουργιών όπως η σύνθεση του RNA και του DNA, ο μεταβολισμός των λιπιδίων και η λειτουργία του λεμφοειδούς, εντερικού και ηπατικού ιστού (262, 263). Ο ρόλος των αντισωμάτων του ανθρώπινου γάλακτος δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα πλήρως, θεωρείται όμως ότι συμβάλλουν στην προστασία έναντι των μικροβιακών τοξινών. Η προλακτίνη επίσης συμβάλλει στην ρύθμιση του ανοσοποιητικού

συστήματος. Τέλος οι κυτοκίνες μπορούν να ρυθμίζουν θετικά ή αρνητικά την παραγωγή άλλων κυτοκινών στον οργανισμό του νεογνού.

5.1.II. Νοσηρότητα

Πολλές από τις μελέτες που έχουν, κατά καιρούς, διεξαχθεί στις αναπτυσσόμενες χώρες έχουν επιβεβαιώσει τα προστατευτικά οφέλη του θηλασμού στην γενικότερη υγεία των νεογνών (254). Στις χώρες αυτές τα περιστατικά γαστρεντερίτιδας και αναπνευστικών νοσημάτων καθώς και η ολική νοσηρότητα και θνησιμότητα κυμαίνονται σε εμφανώς χαμηλότερα ποσοστά στα βρέφη που θηλάζουν σε σχέση με αυτά που τρέφονται με φόρμουλες του εμπορίου (264, 265). Από την άλλη πλευρά, στις ανεπτυγμένες χώρες, όπως οι ΗΠΑ, τα νεογνά που θηλάζουν εμφανίζουν λιγότερα περιστατικά διάρροιας, νοσημάτων του αναπνευστικού και λοιμώξεων του ουροποιητικού (266 – 268), ενώ εκτός από τον ρυθμό νόσησης, αισθητά μικρότερη είναι και η διάρκεια και η σοβαρότητα των νοσημάτων που παρουσιάζονται (269).

Ειδικότερα, στις ανεπτυγμένες χώρες, τα βρέφη που θηλάζουν εμφανίζουν λιγότερα περιστατικά γαστρεντερίτιδας (264, 270). Τα περιστατικά διαρροικών νοσημάτων σε βρέφη που θηλάζαν τουλάχιστον για 12 μήνες αποτελούσαν μόλις το ½ των αντίστοιχων περιπτώσεων που εμφανίζονταν σε βρέφη που τρέφονταν με το μπουκάλι (269).

Επίσης, τα νοσήματα του αναπνευστικού είναι μειωμένα, τόσο από άποψη συχνότητας όσο και από άποψη διάρκειας, στα θηλάζοντα νεογνά (271 – 273). Τα περιστατικά άσθματος είναι λιγότερα και γενικότερα οι λοιμώξεις της αναπνευστικής οδού σημαντικά μειωμένες (270, 273). Τα προστατευτικά αυτά οφέλη παρατηρήθηκαν ακόμα και όταν τα στοιχεία που συλλέχθηκαν ελέγχθηκαν για την ύπαρξη κάποιων παραγόντων που θα μπορούσαν να διαστρεβλώσουν το αποτέλεσμα, όπως το οικογενειακό ιστορικό αλλεργίας, το μέγεθος της οικογένειας και η χρήση καπνού.

Όσον αφορά στην μείωση των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, αυτή επιβεβαιώθηκε, μεταξύ των άλλων, και από μια

έρευνα που εκπονήθηκε από τους Pisacane et.al το 1992 και αντιπαρέταξε ομάδες νεογνών που διέφεραν ως προς την ηλικία, το φύλο, τις ημέρες νοσηλείας, την κοινωνική τάξη, την σειρά γέννησης και το βαθμό χρήσης καπνού της μητέρας (274). Ο μηχανισμός που έχει προταθεί προκειμένου να ερμηνευθεί αυτή η προστατευτική δράση του μητρικού γάλακτος έχει ως εξής : η έκκριση ολιγοσακχαριτών στην σχηματιζόμενη ουρία έχει ως αποτέλεσμα την πρόληψη της βακτηριακής προσκόλλησης στα επιθηλιακά κύτταρα του ουροποιητικού συστήματος (275).

Εκτός από όλα όσα ανφέρθηκαν παραπάνω, πολλές είναι και οι μελέτες που αποδεικνύουν πως η σίτιση των νεογνών με μητρικό γάλα, έναντι της χρήσης φαρμάκων του εμπορίου, συνεπάγεται σε μείωση των περιστατικών νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (276). Αυτή η μείωση στο ποσοστό εμφάνισης νεκρωτικής εντεροκολίτιδας παρατηρήθηκε ακόμα και όταν η παροχή μητρικού γάλακτος ήταν χαμηλή, οπότε και παρουσιαζόταν η ανάγκη για συμπληρωματική χορήγηση κάποιας φόρμουλας γάλακτος. Η χρήση, λοιπόν, μητρικού γάλακτος, είτε εν μέρει, είτε αποκλειστικά φάνηκε να προστατεύει αποτελεσματικά τα πρόωρα νεογνά από αυτή την νοσογόνο κατάσταση.

Τέλος, τα περιστατικά σήψης καθώς και μια πληθώρα άλλων νεογνικών λοιμώξεων φαίνεται να μειώνεται σημαντικά στα πρόωρα νεογνά που λαμβάνουν μητρικό γάλα (277, 278).

5.1.III. Χρόνιες ασθένειες

Στην περίπτωση αυτή τα πιο εντυπωσιακά στοιχεία αφορούν στην μείωση του ποσοστού εμφάνισης χρόνιων ανωμαλιών σε παιδιά που θήλασαν κατά την πρώτη περίοδο της ζωής τους. Υπάρχουν λοιπόν ενδείξεις για προστατευτική δράση του μητρικού γάλακτος έναντι της νόσου του Crohn, του λεμφώματος, του σακχαρώδους διαβήτη καθώς και συγκεκριμένων αλλεργικών καταστάσεων (279 – 281). Τα περισσότερα στοιχεία που σχετίζονται με την προστασία που, πιθανόν, προσφέρει το μητρικό γάλα από κάποιες αλλεργικές καταστάσεις είναι αντικρουόμενα (282). Κάποια από αυτά δεν αποδεικνύουν την ύπαρξη καμίας συσχέτισης, ενώ υπάρχουν και πολλά που υποστηρίζουν πως

παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μείωση των περιστατικών ατοπικής δερματίτιδας και άλλων αλλεργικών καταστάσεων σε θηλάζοντα νεογνά με ανάλογο οικογενειακό ιστορικό (283).

Όσον αφορά στη σχέση μεταξύ μητρικού θηλασμού και ανάπτυξης σακχαρώδους διαβήτη τύπου Ι, αποδείχτηκε ότι η πιθανότητα εμφάνισης του εν λόγω νοσήματος ήταν αυξημένη σε νεογνά που θήλασαν για λιγότερο από τρεις μήνες, οπότε και εισήχθησαν στον οργανισμό τους πρωτείνες αγελαδινού γάλακτος πριν από την ηλικία των τεσσάρων μηνών (281). Εκτιμάται ότι πάνω από το 30% των περ
ιπτώσεων σακχαρώδους διαβήτη τύπου Ι θα μπορούσε να προληφθεί με την απλή απομάκρυνση του αγελαδινού γάλακτος από την διατροφή των νεογνών, τουλάχιστον για τους τρεις πρώτους μήνες της ζωής τους (281).

5.1.IV. Ρυθμός ανάπτυξης

Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις πως οι καμπύλες ανάπτυξης των υγιών βρεφών που θηλάζουν διαφέρουν κατά πολύ από αυτές των βρεφών που σιτίζονται με φόρμουλες γάλακτος και οι οποίες προσεγγίζουν περισσότερο τις αναφορές ανάπτυξης του Διεθνούς Κέντρου Στατιστικών Υγείας (284 – 289). Τα θηλάζοντα νεογνά αναπτύσσονται γρηγορότερα κατά την διάρκεια των δύο πρώτων μηνών, ενώ στην συνέχεια αυτός ο ρυθμός ανάπτυξης μειώνεται σημαντικά συγκρινόμενος με τις αναφορές του Διεθνούς Κέντρου Στατιστικών Υγείας. Η καθυστέρηση αυτή στον ρυθμό ανάπτυξης των νεογνών που θηλάζουν, και η οποία είναι περισσότερο εμφανής στο αποκτώμενο βάρος παρά στο ύψος, μπορεί να οδηγήσει πολλές φορές στην χορήγηση συμπληρωμάτων σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, κάτι το οποίο αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης λοιμώξεων.

Για να διευθετήσει αυτό το θέμα, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ), πρότεινε την συλλογή στοιχείων ανάπτυξης νεογνών που σιτίζονταν σύμφωνα με τις συστάσεις του, δηλαδή αποκλειστική σίτιση με μητρικό γάλα τουλάχιστον για τους τέσσερις πρώτους μήνες και συνέχιση του μητρικού θηλασμού, συνεπικουρικά με την χορήγηση συμπληρώματος, για το υπόλοιπο του πρώτου χρόνου και κατά το

δυνατόν περισσότερο (290, 286, 288, 289, 290, 291 – 294). Συγκρινόμενες με τις αναφορές του Διεθνούς Κέντρου Στατιστικών Υγείας, οι καμπύλες βάρους ανά ηλικία παρουσίασαν πτωτική τάση μετά του πρώτους δύο με τρεις μήνες. Οι καμπύλες ύψους ανά ηλικία επίσης παρουσίασαν πτωτική τάση κατά την διάρκεια του πρώτου έτους, ενώ οι καμπύλες βάρους ανά ύψος ήταν πάνω από τις αναφορές του Διεθνούς Κέντρου Στατιστικών Υγείας για τους πρώτους έξι με οκτώ μήνες, ακολουθώντας και αυτές στη συνέχεια πτωτική πορεία. Η μείωση του ρυθμού ανάπτυξης, τόσο όσον αφορά στο βάρος όσο και στο ύψος, σχετίστηκε άμεσα με την διάρκεια του θηλασμού. Τα νεογνά στα οποία δεν χορηγήθηκε φόρμουλα ή άλλα γάλατα ήταν βαρύτερα κατά την διάρκεια των τριών πρώτων μηνών, αλλά εμφανίστηκαν ελαφρύτερα και πιο κοντά στο τέλος των 12 μηνών. Τα νεογνά στα οποία χορηγήθηκε συμπληρωματικά στερεά τροφή στους τέσσερις με πέντε μήνες εμφανίστηκαν ελαφρύτερα πριν από τους τέσσερις μήνες, συγκριτικά με τα βρέφη στα οποία η συμπληρωματική τροφή χορηγήθηκε αργότερα. Τέλος, τα νεογνά που έλαβαν συμπληρωματική τροφή μετά τους οκτώ μήνες εμφανίστηκαν ελαφρύτερα καθόλη την διάρκεια του πρώτου έτους.

Τα αίτια των αποκλίσεων στους ρυθμούς ανάπτυξης των βρεφών που θηλάζουν και αυτών στα οποία χορηγούνται διάφορες φόρμουλες είναι, εν μέρει μόνο, κατανοητά. Οι χαμηλότερες καμπύλες ανάπτυξης που παρατηρούνται στα θηλάζοντα νεογνά είναι αποτέλεσμα της μικρότερης ενεργειακής πρόσληψης (που συνεπάγεται και μικρότερη πρόσληψη θρεπτικών συστατικών) η οποία παραμένει ακόμα και μετά την εισαγωγή της στερεάς τροφής (217, 288, 290, 295, 296). Όμως, μιας και δεν έχει αποδειχτεί καμία συσχέτιση ανάμεσα στη μικρότερη ενεργειακή πρόσληψη (και κατά συνέπεια στο βραδύτερο ρυθμό ανάπτυξης) και στην εμφάνιση δυσμενών λειτουργικών συνεπειών για τα βρέφη, θα πρέπει να είμαστε πολύ προσεκτικοί και επιφυλακτικοί σχετικά με την εισαγωγή συμπληρωματικής τροφής στην σίτιση των νεογνών.

6. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΟΥΡΙΚΗΣ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗΣ ΛΑΚΤΟΥΛΟΖΗΣ - ΜΑΝΝΙΤΟΛΗΣ

Το λεπτό έντερο επιτελεί μια αντιφατικά διπλή λειτουργία όντας το κύριο όργανο πέψης και απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών αλλά, ταυτόχρονα, και ένα πολύ ισχυρό εμπόδιο έναντι στην υπέρμετρη απορρόφηση βακτηρίων, τροφικών αντιγόνων και μεγάλων μορίων. Η αυξημένη διαπερατότητα του βλεννώδους εντερικού φραγμού μπορεί να αυξήσει κατά πολύ τον αριθμό τοξινών και αντιγόνων που εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος και να οδηγήσει, με αυτό τον τρόπο, σε μια γενικευμένη υπερευαισθησία του ανοσοποιητικού συστήματος σε ορισμένα άτομα. Από την άλλη πλευρά, η μειωμένη εντερική διαπερατότητα αποτελεί μια από τις κυριότερες αιτίες δυσαπορρόφησης, υποσιτισμού και μειωμένης ανάπτυξης. Έχει παρατηρηθεί ένας πολύ μεγάλος αριθμός κλινικών ανωμαλιών, τόσο σε ενήλικους όσο και σε παιδιά, που φαίνεται να συσχετίζεται άμεσα με τις δύο παραπάνω καταστάσεις.

Για την εκτίμηση της γενικότερης κατάστασης του γαστρεντερικού συστήματος και ειδικότερα για την αξιολόγηση της εντερικής διαπερατότητας χρησιμοποιούνται, τα τελευταία χρόνια, κάποιες μη-εισβάλλουσες μέθοδοι που βασίζονται στην μέτρηση της απέκκρισης κάποιων μη μεταβολιζόμενων σακχάρων στα ούρα. Η όλη διαδικασία βασίζεται στην χορήγηση δια του στόματος ενός διαλύματος δύο σακχάρων με διαφορετικό μοριακό βάρος (MB) και διαφορετικό ποσοστό απορρόφησής τους από την εντερική βλεννογόνο. Έχουν ήδη περιγραφεί ορισμένες σαφείς διαφορές στην πρόσληψη μόνο- και δισακχαριτών σε κάποιες παθολογικές διαφοροποιήσεις του εντερικού βλεννογόνου (297 – 300), τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες.

Μονοσακχαρίτες όπως η μαννιτόλη και η L- ραμνόζη περνάνε μέσω των διακυτταρικών οδών των υδάτινων πόρων, εκφράζοντας τον βαθμό απορρόφησης των μικρών μορίων (0,65 nm). Οι δισακχαρίτες, συμπεριλαμβανομένων της λακτουλόζης και της κελλοβιόζης, περνάνε μέσω σύνθετων ενδοκυτταρικών συνδέσμων και αντικατοπτρίζουν τον βαθμό διαπερατότητας των μεγάλων μορίων (0,93nm). Οι εκτιμώμενες

διαπερατότητες μόνο- και δισακχαριτών συγκρίνονται και εκφράζονται συνήθως με την μορφή αναλογίας (πχ. Ο λόγος Λακτουλόζη/μαννιτόλη ή λακτουλόζη/ L – ραμνόζη) σε δείγματα ούρων.

Τα τεστ αυτού του είδους έχουν χρησιμοποιηθεί στην κλινική πρακτική για την εκτίμηση της εντερικής διαπερατότητας σε ασθενείς με κοιλιοκάκη (301 – 306), νόσο του Crohn (307 – 309), ατοπική δερματίτιδα (310 – 311), δυσανοχή στην πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος (312 – 313), κυστική ίνωση (314 – 315), διάφορες οξείες και χρόνιες μορφές διαρροικών νοσημάτων (316 – 317), HIV λοίμωξη (318) και υπέρμετρη βακτηριακή ανάπτυξη σχετιζόμενη με σύνδρομο ανοσοανεπάρκειας (319).

Η λακτουλόζη και η μαννιτόλη επιλέχτηκαν ως δείκτες εντερικής διαπερατότητας γιατί πληρούν ικανοποιητικά όλα τα απαραίτητα κριτήρια (321 – 322), μιας και έχουν αμελητέα σχέση με το σύστημα μεταφοράς των μονοσακχαριτών, απορροφώνται παθητικά και δεν μεταβολίζονται πριν την απέκκριση τους στα ούρα με αποτέλεσμα τυχόν διαφοροποιήσεις στην γαστρική εκκένωση, στην εντερική μεταφορά, την ροή αίματος, την νεφρική λειτουργία και, τέλος, την ουρική απέκκριση να περιορίζονται (320). Αν και έχει παρατηρηθεί μιας κάποιας μορφής μεταβολισμός της μαννιτόλης στο ήπαρ, ωστόσο θεωρείται ασήμαντος (323) ενώ παράλληλα και τα δύο μόρια εκκρίνονται από τα νεφρά με καθαρότητα παρόμοια με αυτή της κρεατίνης (324), ενώ η έκκριση τους είναι ευθέως ανάλογη με την ποσότητα που διέρχεται από το εντερικό επιθήλιο. Τέλος, και η μαννιτόλη και η λακτουλόζη είναι συστατικά μιας κανονικής διατροφής, συμπεριλαμβάνονται σε πολλές βρεφικές φόρμουλες γάλακτος και έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί σε προγενέστερες μελέτες τόσο σε νεογνά όσο και σε ενήλικα άτομα.

Έχει παρατηρηθεί πως η καταμετρούμενη αναλογία λακτουλόζης/μαννιτόλης επηρεάζεται καθοριστικά από μια πληθώρα παραγόντων όπως η ποσότητα της δόσης, η ωσμωτικότητα του διαλύματος, η συνολική επιφάνεια σώματος του ατόμου και η συνολική διάρκεια συλλογής των ούρων. Όσον αφορά στην διάρκεια συλλογής των ούρων, οι περισσότεροι ερευνητές αναφέρονται σε αναλογίες που βρέθηκαν μετά από ανάλυση δειγμάτων πεντάωρης ή εξάωρης συλλογής (325 – 329). Όσον αφορά στην ωσμωτικότητα των χορηγούμενων διαλυμάτων, έχει παρατηρηθεί πως η διαπερατότητα του λεπτού εντέρου στην λακτουλόζη αυξάνεται με την

παρουσία υπερωσμωτικών διαλυμάτων (330 – 331), κατάσταση που εμφανίζεται τόσο στην περίπτωση φυσιολογικού όσο και στην περίπτωση παθολογικού εντερικού επιθηλίου (με την μεγαλύτερη αύξηση να παρατηρείται στις παθολογικές καταστάσεις). Επίσης, έχει αποδειχθεί πως η ευαισθησία της μεθόδου που προκύπτουν μετά από χρησιμοποίηση υπερωσμωτικών διαλυμάτων είναι κατά πολύ υψηλότερη σε σχέση με αυτή που παρατηρείται μετά από χρήση χαμηλής ωσμωτικότητας διαλυμάτων (343). Για τους λόγους αυτούς έχει καθιερωθεί η χρήση υπερωσμωτικών διαλυμάτων σε περιπτώσεις ενηλίκων (325, 326, 332) και μέτρια υπερωσμωτικών διαλυμάτων σε παιδιά και νεογνά (329, 333). Παρόλα αυτά η χρήση υπερωσμωτικών διαλυμάτων σε παιδιά αποδεικνύεται πολλές φορές αρκετά ριψοκίνδυνη, μιας και ευθύνεται για την εμφάνιση ωσμωτικής διάρροιας, και ιδιαίτερα σε παιδιά που παρουσιάζουν κάποια ανωμαλία στο εντερικό τους επιθήλιο. Για τον λόγο αυτό πολλοί ερευνητές είναι ιδιαίτερα επιφυλακτικοί όσον αφορά στην ωσμωτικότητα του διαλύματος που πρόκειται να χορηγήσουν, ενώ αρκετοί είναι αυτοί που προτείνουν την χρήση ισοωσμωτικών διαλυμάτων στα παιδιά (333 – 334)

Πολλές είναι οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της μαννιτόλης και της λακτουλόζης στα δείγματα ούρων με πιο αντιπροσωπευτικές τις ενζυματικές (335 – 336), τις χρωματομετρικές (337) και τις χρωματογραφικές μεθόδους λεπτής στοιβάδας (338). Παρόλα αυτά, οι περισσότερες από τις μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω αφενός μεν είναι εξαιρετικά χρονοβόρες, αφετέρου, δεν επιτρέπουν έναν σαφή, ικανοποιητικό προσδιορισμό και των δύο σακχάρων με αποτέλεσμα τα τελευταία χρόνια να έχουν προταθεί άλλες διαδικασίες, όπως η αέρια χρωματογραφία και το HPLC, για την υπερνίκηση των παραπάνω προβλημάτων. Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται τα κυριότερα πλεονεκτήματα της Αέριας – Υγρής χρωματογραφικής μεθόδου συγκριτικά με άλλες μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Πίνακας VIII. Πιθανά πλεονεκτήματα της Αέριας – Υγρής χρωματογραφικής μεθόδου συγκριτικά με άλλες μεθόδους.

-
1. Υψηλότερη αναπαραγωγισιμότητα και ευαισθησία
 2. Απλούστερη και γρηγορότερη προετοιμασία των δειγμάτων
 3. Χρησιμοποίηση δύο εσωτερικών standards (σουκρόζης για τον προσδιορισμό της λακτουλόζης και α-μεθυλ-γλυκοπυρανοσίδης για τον προσδιορισμό της μαννιτόλης), αποφεύγοντας την διαφορετική συμπεριφορά μονοσακχαριτών και δισακχαριτών στην περίπτωση που χρησιμοποιούταν ένα μόνο standard.
 4. Έκφραση των αποτελεσμάτων ως αναλογία λακτουλόζης / μαννιτόλης αποφεύγοντας την 24ωρη συλλογή ούρων, το οποίο ήταν απαραίτητο σε άλλες μεθόδους, εξαιτίας του παρόμοιου ρυθμού απέκκρισης και των δύο σακχάρων.
-

Υπάρχουν πολλές διαδικασίες με χρήση του HPLC που είναι διαθέσιμες για τον προσδιορισμό των σακχάρων στα ούρα. Μερικές μέθοδοι απαιτούν την χρήση ενός ανιχνευτή Δείκτου Διάθλασης (339 – 341), ο οποίος έχει το πλεονέκτημα ότι είναι διεθνής αλλά επηρεάζεται σημαντικά από εξωγενείς παράγοντες, όπως η πίεση και η θερμοκρασία, ενώ ταυτόχρονα είναι δύσκολος για καθημερινή χρήση και παρουσιάζει μικρή ευαισθησία.

6.1 Συνθήκες ανάλυσης HPLC

Στο σημείο αυτό κρίνεται απαραίτητο να αναφερθούμε συνοπτικά στις κυριότερες συνθήκες ανάλυσης του HPLC (342) προκειμένου να γίνει περισσότερο κατανοήτη αυτή η ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος. Οι συνθήκες αυτές είναι οι παρακάτω :

1. Η ροή και η πίεση των διαλυτών της κινητής φάσης
Οι συνήθεις ροές είναι 0,5 – 1,5 ml/min και όσο πιο γρήγορη ροή, τόσο μεγαλύτερη και η πίεση των διαλυτών και τόσο συντομότερη η ανάλυση, με απαραίτητη προϋπόθεση την λήψη διαχωρισμένων κορυφών μέσα σε εύλογο χρονικό διάστημα, 5 – 60 min.
2. Το είδος των διαλυτών της κινητής φάσης. Το είδος των διαλυτών επιλέγεται πάντα σε σχέση με το είδος του δείγματος που θα αναλυθεί.
3. Η επιλογή του κατάλληλου ανιχνευτή για την ανίχνευση του δείγματος ανάλυσης.
4. Η προαιρετική επιλογή της κατάλληλης παραγωγιμοποίησης του δείγματος εάν αυτό είναι απαραίτητο.
5. Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη του δείγματος και του κατάλληλου όγκου του δείγματος που θα εισαχθεί στον εισαγωγέα HPLC.
6. Η επιλογή της κατάλληλης στήλης για την ανάλυση.
7. Η θερμοκρασία της στήλης HPLC. Το μεγαλύτερο ποσοστό των αναλύσεων HPLC γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου, μερικές αναλύσεις όμως βελτιώνονται με την τήρηση σταθερών θερμοκρασιών ανάλυσης.

6.2. Προετοιμασία των δειγμάτων για την εκτίμηση της εντερικής διαπερατότητας με την μέθοδο μέτρησης ουρικής απέκκρισης λακτουλόζης/μαννιτόλης

Στις περισσότερες των ερευνών όπου ακολουθείται η συγκεκριμένη μέθοδος μέτρησης της εντερικής διαπερατότητας η όλη διαδικασία ξεκινά με κάποιο διαχωρισμό των συμμετεχόντων σε δύο ή περισσότερες ομάδες ή υποομάδες, ανάλογα με τα επιμέρους χαρακτηριστικά τους αλλά και τον σκοπό και την φύση της έρευνας (ο συνήθης διαχωρισμός γίνεται μεταξύ υγιών ατόμων και ατόμων που εξαιτίας κάποιου παθολογικού αιτίου εμφανίζουν διαταραγμένη εντερική διαπερατότητα). Στην συνέχεια δίνεται στους συμμετέχοντες να πιουν ένα μίγμα προκαθορισμένης σύστασης, όσον αφορά στη μαννιτόλη και την λακτουλόζη, και συγκεκριμένης ωσμωτικότητας, ανάλογα, κυρίως, με την ηλικία των συμμετεχόντων. Τα δείγματα των ούρων που συλλέγονται μετά από ένα χρονικό διάστημα, συνήθως 6 ωρών,

αποθηκεύονται σε χαμηλές θερμοκρασίες, της τάξης των -20 έως -30°C , μέχρις ότου αναλυθούν στο HPLC. Η βαθμονόμηση γίνεται με πρότυπα διαλύματα μαννιτόλης και λακτουλόζης και στην συνέχεια γίνεται ανάλυση των δειγμάτων, ενώ για την διόρθωση παραγόντων που επηρεάζουν την εντερική λήψη αυτών των σακχάρων, το ποσοστό απέκκρισης τους εκφράζεται συνήθως ως λόγος.

Όσον αφορά στα αποτελέσματα των αναλύσεων, χαμηλά επίπεδα μαννιτόλης και λακτουλόζης υποδεικνύουν την ύπαρξη δυσαπορρόφησης ενώ υψηλά επίπεδα και των δύο είναι χαρακτηριστικό αυξημένης εντερικής διαπερατότητας. Ο αυξημένος λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης υποδεικνύει ότι οι πόροι του εντερικού βλενογόννου είναι μεγάλοι σε μέγεθος επιτρέποντας, έτσι, την ελεύθερη διέλευση μεγάλων μορίων, μεταξύ των οποίων και πιθανών αντιγονικών.

6.3. Χαρακτηριστικά παραδείγματα ερευνών όπου έγινε χρήση της παραπάνω μεθόδου

Το 1985 ο Ford RP και οι συνεργάτες του (358) χρησιμοποίησαν αυτή τη μέθοδο προκειμένου να μελετήσουν την σχέση που υπάρχει μεταξύ της εντερικής διαπερατότητας σε κάποια σάκχαρα και των διαρροικών νοσημάτων σε παιδιά. Η διαπερατότητα του εντέρου μετρήθηκε σε 39 παιδιά (ηλικίας 1 μηνός έως 3 ετών) που εμφάνιζαν διάρροια και σε 28 παιδιά (ηλικίας από 6 μηνών έως 15 ετών) που είχαν υποβληθεί σε βιοψία του εντέρου. Η διαπερατότητα μετρήθηκε μέσω της διαφορετικής απορρόφησης από ένα ισοτονικό (χορηγούμενο από το στόμα) διάλυμα που περιείχε 3,5 gr. λακτουλόζη, 0,5 gr. L-ραμνόζη, 0,5 gr D-ξυλόζη και 5 gr. λακτόζη. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας έδειξαν πως τα παιδιά με οξεία γαστρεντερίτιδα παρουσίαζαν σημαντικά αυξημένη διαπερατότητα, με τον λόγο έκκρισης λακτουλόζης / L-ραμνόζης να υπολογίζεται στα $0,43 \pm 0,3$ (ενώ ο φυσιολογικός έχει υπολογιστεί κάτω από 0,07). Όλα τα παιδιά επανεξετάστηκαν μετά από 3 – 16 εβδομάδες αφού είχαν αναρρώσει πλήρως από την γαστρεντερίτιδα και διαπιστώθηκε ότι η εντερική τους διαπερατότητα είχε επανέλθει σε κανονικά επίπεδα ($0,045 \pm 0,018$). Στο σημείο αυτό

πρέπει να αναφερθεί, πως σημαντικά αυξημένη εμφανίστηκε και η εντερική διαπερατότητα παιδιών με χρόνια διάρροια, μόνο που στην περίπτωση αυτή η αύξηση ήταν μικρότερη από την περίπτωση της οξείας γαστρεντερίτιδας ($0,12 \pm 0,074$).

Σε μια πιο σύγχρονη της προαναφερθείσας έρευνας ο Zhang Y. και οι συνεργάτες του (357) χρησιμοποίησαν την ίδια σχεδόν μέθοδο προκειμένου να μελετήσουν και πάλι την σχέση μεταξύ εντερικής διαπερατότητας και συνδρόμων οξείας εκκριτικής διάρροιας (προκαλούμενης είτε από κάποιο ιό είτε από *Cryptosporidium*) σε περουβιανά μωρά ηλικίας < 36 μηνών. Το σύνολο των συμμετεχόντων (29 τον αριθμό) μοιράστηκε σε 3 ομάδες (η πρώτη περιελάμβανε 15 βρέφη με ιική διάρροια, η δεύτερη 7 βρέφη με μόλυνση από *Cryptosporidium* ενώ στην τρίτη ομάδα συγκαταλέγονταν 7 βρέφη με εκκριτική διάρροια) και στη συνέχεια χορηγήθηκε και στις 3 ομάδες ένα διάλυμα που περιείχε 0,4 gr/Kg λακτουλόζη και 0,1 gr/Kg μαννιτόλη. Η ουρική αποβολή των σακχάρων μετρήθηκε με μια ενζυματική φασματομετρική μέθοδο. Ο λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης χρησιμοποιήθηκε ως μέσο μέτρησης της εντερικής διαπερατότητας, με αυξημένο λόγο να υποδηλώνει την ύπαρξη αυξημένης εντερικής διαπερατότητας. Όλα τα βρέφη, και από τις 3 ομάδες, επανεξετάστηκαν 20 ημέρες μετά το αρχικό τεστ. Κατά την οξεία φάση της διάρροιας (1η ημέρα) ο λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης στις 3 ομάδες των βρεφών (με την σειρά που αναφέρθηκαν παραπάνω) ήταν $0,67 \pm 0,1$, $0,76 \pm 0,16$, και $0,26 \pm 0,04$ αντίστοιχα. Κατά την φάση της ανάρρωσης (20η ημέρα) οι αντίστοιχοι λόγοι ήταν $0,19 \pm 0,02$, $0,28 \pm 0,05$ και $0,29 \pm 0,07$. Αξιοσημείωτες μειώσεις του λόγου λακτουλόζης / μαννιτόλης παρατηρήθηκαν στην 1η και την 2η ομάδα μεταξύ της 1ης και της 20ης ημέρας, ενώ δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφοροποιήσεις στην 3η ομάδα, μεταξύ 1ης και 20ης ημέρας, της 1ης και της 3ης ομάδας την 20η ημέρα ή της 2ης και της 3ης ομάδας την 20η ημέρα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν πως η αυξημένη εντερική διαπερατότητα, που οφείλεται σε μόλυνση από ιό ή από *Cryptosporidium*, στα Περουβιανά μωρά ηλικίας < 36 μηνών είναι ένα σημαντικό αλλά όχι αναστρέψιμο φαινόμενο.

Το 1987 ο Andre C. και οι συνεργάτες του (352) θέλησαν να μετρήσουν την εντερική διαπερατότητα στην λακτουλόζη και την μαννιτόλη και να την χρησιμοποιήσουν ως διαγνωστικό μέσο για τον προσδιορισμό ύπαρξης

τροφικής αλλεργίας. Έτσι, εκτιμήθηκε η εντερική διαπερατότητα 90 υγιών ατόμων και 60 πασχόντων από τροφική αλλεργία μετά από χορήγηση, και στις δύο ομάδες, 5 gr. μαννιτόλης (δείκτης απορρόφησης μικρών μορίων) και 5 gr. λακτουλόζης (δείκτης απορρόφησης μεγάλων μορίων) και στην συνέχεια μέτρηση της ουρικής απέκκρισης των δύο αυτών σακχάρων. Στα υγιή άτομα, η μέση 5ωρη απέκκριση της μαννιτόλης ήταν 14,11 % και της λακτουλόζης 0,26 %. Σε περίοδο νηστείας, τα αντίστοιχα ποσοστά για τα 60 άτομα που εμφάνιζαν τροφική αλλεργία ήταν 13,22 % (όχι κατά πολύ διαφορετικό από των υγιών ατόμων) και 0,55 % (σημαντικά μεγαλύτερο από αυτό των υγιών ατόμων). Μετά από την κατανάλωση τροφικών αλλεργιογόνων από τους ασθενείς, η μέση ουρική απέκκριση της μαννιτόλης έπεσε στο 11,57% και το αντίστοιχο ποσό για την λακτουλόζη αυξήθηκε σημαντικά, γεγονός που μας επιτρέπει να ανιχνεύουμε με σαφήνεια την ύπαρξη τροφικής αλλεργίας.

Σε μια άλλη έρευνα που εκπονήθηκε επίσης το 1987 από τον Duoront C. και τους συνεργάτες του (353) μελετήθηκε η εφαρμογή της μέτρησης της εντερικής διαπερατότητας σε σάκχαρα στην διάγνωση της κοιλιοκάκης και της εντεροπάθειας στην πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος. Η εντερική διαπερατότητα εκτιμήθηκε με μέτρηση της διαφορετικής ουρικής απέκκρισης δύο από του στόματος χορηγούμενων, μη μεταβολιζόμενων σακχάρων, διαφορετικού μοριακού βάρους, της μαννιτόλης και της λακτουλόζης. Στην έρευνα συμμετείχαν συνολικά 39 παιδιά, εκ των οποίων τα 25 ήταν υγιή, τα 7 είχαν κοιλιοκάκη ενώ τα υπόλοιπα 7 εμφάνιζαν κάποια μορφή εντεροπάθειας μετά την κατανάλωση αγελαδινού γάλακτος. Στα 25 υγιή παιδιά η μέση ουρική απέκκριση μαννιτόλης και λακτουλόζης ήταν $16,30 \pm 5,77\%$ και $0,33 \pm 0,10\%$ αντίστοιχα, ενώ ο λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης (L/M) ήταν $2,73 \pm 0,70\%$. Στα 7 παιδιά με κοιλιοκάκη ο παραπάνω λόγος εμφάνιζε μια σημαντική αύξηση της τάξης του $8,53 \pm 2,54\%$, ενώ στα 7 παιδιά με ευαισθησία στο αγελαδινό γάλα ο λόγος L/M ήταν φυσιολογικός κατά την περίοδο νηστείας ($2,63 \pm 1,28\%$) και σημαντικά αυξημένος μετά από χορήγηση αγελαδινού γάλακτος ($7,22 \pm 3,88\%$), υποδεικνύοντας ότι η μέθοδος αυτή είναι ένα αξιόπιστο εργαλείο για την ανίχνευση παθολογικών καταστάσεων του γαστρεντερικού συστήματος. Ανάλογα ήταν και τα συμπεράσματα που προέκυψαν και από μια πιο πρόσφατη έρευνα που έγινε από τον Leke L. και τους συνεργάτες του, το 1992 (354), σε παιδιά με

κοιλιοκάκη και έδειξε μια αύξηση του λόγου L/M όταν τα παιδιά συμπεριελάμβαναν την γλουτένη στη διαίτα τους, σε σχέση με τον λόγο L/M που μετρήθηκε όταν τα παιδιά ακολουθούσαν νια διαίτα ελεύθερη γλουτένης.

Το 1988, η περί ου ο λόγος μέθοδος χρησιμοποιήθηκε και πάλι σε ενήλικες ως διαγνωστικό μέσο της νόσου του Crohn (355). Στην μελέτη που οργανώθηκε από τον Andre F. και τους συνεργάτες του συμμετείχαν 100 υγιείς ενήλικες και 47 ασθενείς με νόσο του Crohn. Αυτοί οι ασθενείς διαχωρίστηκαν περαιτέρω σε 3 υποομάδες ανάλογα με τον βαθμό σοβαρότητας της νόσου. Τα αποτελέσματα δόθηκαν ως ποσοστά ουρικής απέκκρισης της λακτουλόζης και της μαννιτόλης αλλά και εκφραζόμενα ως λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης (L/M). Συνολικά, όλοι οι ασθενείς με νόσο του Crohn εμφάνισαν χαμηλότερα ποσοστά ουρικής αποβολής μαννιτόλης σε σχέση με τα υγιή άτομα, ενώ το ποσοστό ουρικής αποβολής λακτουλόζης καθώς και ο λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης ήταν αυξημένα συγκριτικά με τα αντίστοιχα αποτελέσματα των υγιών ατόμων. Επιπλέον, θα πρέπει να ανφερθεί πως οι διαφοροποιήσεις των αποτελεσμάτων μεταξύ υγιών και ασθενών, τόσο όσον αφορά στα ποσοστά όσο και στον λόγο L/M, αυξάνονταν όσο αυξανόταν ο βαθμός σοβαρότητας της νόσου.

Με ενήλικες ασχολήθηκαν το 2000 και ο Johnston SD και οι συνεργάτες του σε μια μελέτη (356) που σκοπός της ήταν να προσδιορίσει την αξία της μεθόδου στην οποία αναφερόμαστε στον έλεγχο του ενήλικου πληθυσμού για αδιάγνωστη εντεροπάθεια και λανθάνουσα κοιλιοκάκη. Στους συμμετέχοντες χορηγήθηκε ένα ωσμωτικό διάλυμα με περιεκτικότητα 5gr σε λακτουλόζη και 2 gr σε μαννιτόλη και μετρήθηκε η ποσότητα λακτουλόζης και μαννιτόλης που ανακτήθηκε μετά από 5 ώρες σε δείγμα ούρων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ο καταμετρούμενος λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης ήταν κατά πολύ μεγαλύτερος στα νοσούντα άτομα σε σχέση με την ομάδα των controls.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να ανφερθεί πως δεν ήταν λίγες και οι φορές που αρκετοί από τους ερευνητές ασχολήθηκαν με την αξιολόγηση της μεθόδου αυτής καθεαυτής στην εκτίμηση της εντερικής διαπερατότητας σε διάφορα νοσήματα του γαστρεντερικού. Αυτό επιχείρησε να κάνει και μια ομάδα ερευνητών το 1993 (359). Η προς μελέτη μέθοδος εφαρμόστηκε σε μια ομάδα ελέγχου 51 ατόμων (εκ των οποίων τα 25 ήταν παιδιά και οι 26

ενήλικες) και σε μια μεγάλη ποικιλία νοσημάτων : (πιθανολογούμενη) αλλεργία στην αλβουμίνη του αγελαδινού γάλακτος (30 παιδιά), (πιθανολογούμενη) κοιλιοκάκη (86 παιδιά και 35 ενήλικες), νόσο του Crohn (25 ασθενείς) με ελκώδη κολίτιδα (9) και παγκρεατική ανεπάρκεια (31) εξαιτίας κυστικής ίνωσης ή χρόνιας παγκρεατίτιδας. Σε όλους του ασθενείς δόθηκε διάλυμα λακτουλόζης και μαννιτόλης και έγινε μέτρηση της ποσότητας λακτουλόζης και μαννιτόλης (εκφραζόμενα με την μορφή λόγου) που ανακτήθηκε μετά από 5 ώρες σε δείγμα ούρων. Στους ασθενείς με αλλεργία στην πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος ο λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης ήταν σημαντικά αυξημένος με αισθητή βελτίωση μετά από συγκεκριμένη αγωγή. Αυξημένος, επίσης παρουσιάστηκε ο λόγος λακτουλόζης / μαννιτόλης και στις περιπτώσεις ενεργού κοιλιοκάκης (καθώς και στους συγγενείς πρώτου βαθμού αυτών των ατόμων), στην νόσο του Crohn, στην ενεργό ελκώδη κολίτιδα και στην παγκρεατική ανεπάρκεια. Από όλα αυτά έγινε σαφές πως η μέθοδος μέτρησης της εντερικής διαπερατότητας με μέτρηση της ουρικής απέκκρισης σακχάρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα αξιόλογο εργαλείο για την διάγνωση και εκτίμηση παθήσεων του γαστρεντερικού συστήματος.

7. ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΗ ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ

Οι πιθανές μορφές χορήγησης με τις οποίες μπορούν να χορηγηθούν τα προβιοτικά είναι σε κάψουλες, ταμπλέτες, διαλύματα είτε ως συστατικά εμπλουτισμένων τροφίμων. Από μελέτες που έγιναν σε πληθυσμούς (343 – 344), οι οποίοι κατανάλωναν για μεγάλα χρονικά διαστήματα προβιοτικά, και συγκεκριμένα σε ποσότητες $< 10^6 - 10^9$ βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων μπιφιντοβακτηρίων και λακτοβακίλλων για λιγότερο από ένα χρόνο, δεν αναφέρθηκαν κάποιες δυσάρεστες επιδράσεις, ενώ σε μελέτες που περιελάμβαναν παιδιά εμφανίστηκε και κάποιο επιπρόσθετο όφελος, όσον αφορά στην φυσιολογική λειτουργία του εντέρου. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να ανφερθεί πως σε ορισμένες περιπτώσεις παρουσιάστηκαν κάποιες σπάνιες μορφές βακτηριαιμιών, οι οποίες όμως δεν προέρχονταν από

προϊόντα τροφίμων, ενώ είναι πρακτικά αδύνατον στις περισσότερες περιπτώσεις να καθοριστεί πότε η βακτηριαμία από λακτοβάκιλλους προερχόταν από μεταφορά βακτηρίων ή όχι. Όσον αφορά τώρα στην χορηγούμενη δόση, είναι δύσκολο να κάνουμε γενικεύσεις μιας και υπάρχει μια τεράστια ποικιλία προβιοτικών ειδών που χορηγούνται σε διαφορετικά σχήματα και δόσεις. Το εύρος των χορηγούμενων δόσεων είναι μεγάλο, γενικά όμως κρίνονται απαραίτητες δόσεις μεταξύ 10^6 - 10^9 βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων προκειμένου να αναφερθεί κάποιο παρατηρήσιμο αποτέλεσμα. Αυτό βέβαια προϋποθέτει πως θα πρέπει να γίνεται αυστηρός έλεγχος της χορηγούμενης δόσης ανάλογα με το είδος του προβιοτικού, τον σκοπό χορήγησης και τις δυνατές αλληλεπιδράσεις, είτε με άλλο μικροοργανισμό είτε με κάποιο από τα συστατικά του τροφίμου (343 – 345).

Στο σημείο αυτό, τέλος, δεν θα πρέπει να παραλείψουμε να αναφέρουμε πως δεν έχει προσδιοριστεί ακόμα ο αριθμός των προβιοτικών βακτηρίων που απαιτούνται προκειμένου να υπάρχει θετικό αποτέλεσμα από την κατανάλωση διαφόρων τροφίμων, και ιδιαίτερα γιαουρτιού, εμπλουτισμένων με προβιοτικές καλλιέργειες. Τα νούμερα που έχουν προταθεί ποικίλλουν από είδος σε είδος, ακόμα και μεταξύ στελεχών που ανήκουν στο ίδιο είδος, οι περισσότεροι όμως ερευνητές αναφέρουν ότι βακτηριακοί πληθυσμοί μεγαλύτεροι από 10^7 βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων / ml είναι ικανοποιητικοί.

7.1. Παραδοσιακά και εμπλουτισμένα τρόφιμα με προβιοτικά

Οι κυριότεροι φορείς προβιοτικών ειδών είναι τα τρόφιμα που έχουν υποστεί ζυμώσεις καθώς επίσης και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το γάλα, το τυρί και το γιαούρτι (346). Ειδικότερα, κάποια παραδείγματα παραδοσιακών προϊόντων τα οποία είναι φορείς λακτοβακίλλων είναι οι ελιές, το αγγουράκι τουρσί, τα λουκάνικα, το σοκρούτ (ζυμωμένο λάχανο) και όλα τα ζυμωμένα συστατικά των φυτών. Βέβαια, υπάρχουν και κάποια άλλα παραδοσιακά προϊόντα που εμπίπτουν σε μια ιδιαίτερη κατηγορία, όπως το ξινό ζυμάρι (sourdough), στο οποίο οι λακτοβάκιλλοι που περιέχει δεν καταναλώνονται ζωντανοί, γιατί το προϊόν ψύχεται πριν την κατανάλωση και

κάποια άλλα προϊόντα που βασίζονται στα δημητριακά, περιέχουν λακτοβάκιλλους και καταναλώνονται χωρίς να έχουν υποστεί θέρμανση μετά τη ζύμωση. Στον δυτικό κόσμο τα προβιοτικά προερχόμενα από ζυμωμένα δημητριακά, προστίθενται συνήθως σε διάφορα φρουτοποτά, τα προϊόντα αυτά όμως δεν συγκαταλέγονται στα παραδοσιακά. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να ανφέρουμε ότι το πρώτο προβιοτικό τρόφιμο, που δεν περιείχε γάλα ή συστατικά γάλακτος, ήταν ένα προϊόν που κυκλοφόρησε για πρώτη φορά στη Σουηδία το 1994. Αρχικά παρασκευάστηκε με την ιδέα ότι θα χρησιμοποιηθεί στα διαλύματα εντερικής διατροφής και το ενεργό συστατικό του είναι χυλός βρώμης ζυμωμένος με βακτήρια γαλακτικού οξέος. Η ζύμωση του προϊόντος γίνεται από το στέλεχος *L.plantarum* και το τελικό προϊόν περιέχει περίπου 10^{12} βιώσιμες αναπαραγωγικές μονάδες *L.plantarum*/λίτρο και χρησιμοποιείται στη βιομηχανία για την παραγωγή χυμών με περιεκτικότητα 5% σε προβιοτικά. Τα βακτήρια είναι ανθεκτικά σε χαμηλό pH και τα προϊόντα αυτά μπορούν να φυλαχθούν στο ψυγείο για περισσότερο από ένα μήνα, χωρίς απώλειες στην βιωσιμότητα τους.

Ένα άλλο προϊόν, το οποίο θα μπορούσαμε να συγκαταλέξουμε στα προβιοτικά, είναι το κεφίρ που παράγεται μετά από ζύμωση του γάλακτος με σπόρους κεφίρ. Η σύνθεση των σπόρων αυτών ποικίλλει και δεν έχει ακόμα καθοριστεί ευκρινώς, περιγράφεται όμως ως συμβιωτικός συσχετισμός μεταξύ γαλακτικών και οξικών βακτηρίων και ζυμών. Στα σπόρια αυτά έχει βρεθεί ότι υπάρχει το *L.kefiranoformans*, το οποίο αυξάνεται στο κέντρο, και το *L.kefir*, το οποίο καταλαμβάνει μια μικρή μόνο περιοχή στην επιφάνεια του σπόρου. Το προϊόν αυτό φαίνεται πως επηρεάζει θετικά το ανοσοποιητικό σύστημα, μιας και από πειράματα που έγιναν σε ζώα φάνηκε ότι το κεφίρ ενεργοποιεί κυτταρικούς και χημικούς παράγοντες και μηχανισμούς του ανοσοποιητικού συστήματος, ενώ ταυτόχρονα έχει αποδειχθεί πως ενισχύει την πέψη της λακτόζης, μέσω της δράσης της μικροβιακής β-γαλακτοζιδάσης. Σε πρόωρα νεογνά χρησιμοποιήθηκε, κυρίως, για την ταχύτερη πρόσληψη σωματικού βάρους, ενώ, κατά την διάρκεια της χορήγησης του, παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση των απαραίτητων λιπαρών οξέων στο αίμα (346).

Όσον αφορά στα τυριά, τα σκληρά τυριά που έχουν μεγάλο χρόνο ωρίμανσης, όπως για παράδειγμα το Τσένταρ (με χρόνο επώασης μέχρι και δύο χρόνια), φαίνεται πως αποτελούν τους κυριότερους φορείς προβιοτικών.

Τα κύρια πλεονεκτήματα αυτού του προϊόντος, συγκριτικά με τα προϊόντα του γιαουρτιού, αποδίδονται κατά κύριο λόγο στο γεγονός πως ο αριθμός των βιώσιμων αναπαραγωγικών βακτηρίων που υπάρχουν στο τελικό προϊόν είναι κατά πολύ μεγαλύτερος. Αυτό οφείλεται στην υψηλότερη περιεκτικότητα του συγκεκριμένου προϊόντος σε λίπος, σε σχέση με το γάλα, στην μειωμένη οξύτητα του και στην γενικότερη υφή του, παράγοντες που φαίνεται πως δρουν προστατευτικά έναντι στην αλλοίωση που υφίστανται οι μικροοργανισμοί κατά την διέλευση τους από το γαστρεντερικό σύστημα.

Αναφερόμενοι τώρα στο γιαούρτι, το κύριο τρόφιμο-φορέα προβιοτικών, θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα τελευταία χρόνια κερδίζει όλο και περισσότερο το ενδιαφέρον των καταναλωτών, μιας και η υψηλή διατροφική του αξία έχει συσχετισθεί άμεσα με την προσθήκη λακτοβακίλλων και μπιφιντοβακτηρίων. Κατά την παραγωγή του γιαουρτιού, οι αλλαγές που επιτελούνται στη σύνθεση του γάλακτος που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη οφείλονται στην ζύμωση και στα συστατικά που προστίθενται κατά την διαδικασία παραγωγής. Οι αλλαγές αυτές περιλαμβάνουν την ζυμωτική δράση των εμβολιαζόμενων καλλιιεργειών έναρξης, την έκκριση διάφορων ουσιών από τους μικροοργανισμούς, καθώς επίσης και τα ένζυμα με τα οποία συσχετίζονται τα βακτήρια αυτά. Οι λακτοβάκιλλοι διασπών την λακτόζη και παράγουν γαλακτικό οξύ, ενώ η λακτάση των βακτηρίων διασπά την λακτόζη του γάλακτος του γιαουρτιού και παράγεται γαλακτόζη, την οποία χρησιμοποιούν αργότερα τα είδη *S.thermophilus* και το *L.bulgaricus*.

Τα τελευταία χρόνια, ορισμένα γιαούρτια, έχουν τροποποιηθεί κατά τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να περιλαμβάνουν ζωντανές καλλιέργειες των *L.acidophilus* και *Bifidobacterium*, εκτός των μικροοργανισμών των συμβατικών καλλιιεργειών γιαουρτιού. Για την παραγωγή αυτών των γιαουρτιών ακολουθούνται οι ίδιες ακριβώς διαδικασίες παραγωγής που εφαρμόζονται και στην περίπτωση του παραδοσιακού γιαουρτιού, με την εξαίρεση της ενσωμάτωσης των ζωντανών προβιοτικών αρχικών καλλιιεργειών.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την βιωσιμότητα των παραπάνω καλλιιεργειών στα γιαούρτια και όλα τα υπόλοιπα παράγωγα των γαλακτοκομικών προϊόντων είναι πολλοί. Έτσι έχει βρεθεί ότι το *L.acidophilus* μπορεί να επιζήσει καλύτερα σε σχέση με τους μικροοργανισμούς των

παραδοσιακών καλλιεργειών γιαουρτιού σε όξινες συνθήκες ενώ η ανθεκτικότητα των μπιφιντοβακτηρίων εξαρτάται από το κάθε είδος και η ελάχιστη τιμή pH για την επιβίωση τους κυμαίνεται μεταξύ 5,5 – 5,6. Μιας, λοιπόν, και η βιωσιμότητα των καλλιεργειών αυτών μειώνεται σημαντικά κατά την διάρκεια της αποθήκευσης τους στο ψυγείο, σε όξινο περιβάλλον, θα πρέπει να είμαστε πολύ προσεκτικοί προκειμένου να εξασφαλίσουμε την ποιότητα των εν λόγω προϊόντων. Για τον λόγο αυτό, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί και στην θερμοκρασία αποθήκευσης των ζυμωμένων προβιοτικών προϊόντων, η οποία παίζει καθοριστικό ρόλο στην βιωσιμότητα των προβιοτικών μικροοργανισμών. Οι περισσότερες έρευνες συγκλίνουν στο ότι σε χαμηλές θερμοκρασίες οι ρυθμοί επιβίωσης των γαλακτικών βακτηρίων είναι μεγαλύτεροι. Γενικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα μπιφιντοβακτήρια είναι λιγότερο ανθεκτικά σε χαμηλές θερμοκρασίες συγκρινόμενα με το *L.acidophilus* (347).

Σήμερα, στην παγκόσμια αγορά, κυκλοφορούν περισσότερα από 70 προϊόντα (κυρίως γαλακτοκομικά) στα οποία έχουν προστεθεί μπιφιντοβακτήρια αλλά και άλλες καλλιέργειες προβιοτικών βακτηρίων. Τα προϊόντα αυτά περιλαμβάνουν, εκτός από το γάλα και το γιαούρτι, ξυνόγαλα, ξινή κρέμα, οξυδόφιλο γάλα, κατεψυγμένα επιδόρπια, μπισκότα, κρέμες, χυμούς, σνακς, ποτά εμπλουτισμένα με ασβέστιο, γλυκίσματα χαμηλών θερμίδων, τσίχλες και άλλα (348 – 350). Τα περισσότερα από τα προϊόντα αυτά περιέχουν μπιφιντοβακτήρια αλλά και μεικτές καλλιέργειες μπιφιντιβακτηρίων και άλλων βακτηρίων του γαλακτικού οξέος. Οι καλλιέργειες αυτές περιλαμβάνουν *B.bifidum*, *L.acidophilus* και *Streptococcus thermophilus* ή συνδυασμός των *B.bifidum* και *L.acidophilus*. Επίσης στα βιομηχανικά προϊόντα και άλλοι μικροοργανισμοί όπως *L.casei*, *L.rhamnosus*, *L.johnsonii*, *L.gasseri*, *L.reuteri*, *B.infantis*, *B.longum* (351), ενώ κάποιοι άλλοι συνδυασμοί μικροβιακών στελεχών χρησιμοποιούνται για την επίτευξη αυξημένων αριθμών ανάπτυξης και για την βελτίωση υφής και γεύσης.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί πως τα περισσότερα από τα παραπάνω προϊόντα έχουν εφαρμογή και στα παιδιά, ενώ τα προϊόντα γάλακτος με μπιφιντοβακτήρια έχουν ένα συγκριτικό πλεονέκτημα, σε σχέση με τα άλλα προϊόντα, όταν χρησιμοποιούνται για την διατροφή των παιδιών.

7.2. Φαρμακευτικά σκευάσματα με προβιοτικά

Τα τελευταία χρόνια, στην αγορά, υπάρχει μια τεράστια ποικιλία σκευασμάτων που περιέχουν προβιοτικά και κυκλοφορούν είτε με την μορφή κάψουλων ή ταμπλετών είτε με την μορφή διαλυμάτων. Στα σκευάσματα αυτά μπορεί να συνυπάρχουν καταβολικά μεταβολικά ένζυμα, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, αντιοξειδωτικά ένζυμα, φρουτοολιγοσακχαρίτες, καθώς και αντιβιοτικά. Η ειδική σύσταση του κάθε σκευάσματος το καθιστά κατάλληλο για κάποια ηλικία ή κλινική κατάσταση (348), ενώ τα περισσότερα από αυτά χρησιμοποιούνται κυρίως στη θεραπεία γαστρεντερικών νοσημάτων. Στον πίνακα που ακολουθεί αναφέρουμε τα κυριότερα σκευάσματα που κυκλοφορούν στο εμπόριο.

Πίνακας ΙΧ. Σκευάσματα προβιοτικών

Όνομα προϊόντος	Σύσταση σε προβιοτικά	Περιγραφή κ ιδιότητες
Acidophilas (Wakunaga probiotics)	Lactobacillus acidophilus Λιπάση, πρωτεάση, αμυλάση και ένζυμα λακτάσης	Ένζυμα καταβολισμού υδατανθράκων, πρωτεϊνών και λιπών
Bifa 15 (Eden foods)	Bifidobacterium longum	Χρησιμοποιείται από ασθενείς με AIDS, μυκητιάσεις και άλλες μολύνσεις του παχέος εντέρου
Colinfant, Muyaflor	Μη εντεροπαθογόνο Escherichia coli	Ζωντανά εμβόλια. Αποικούν το έντερο τελειόμηνων αλλά και πρώων νεογνών και

		ενεργοποιούν την παραγωγή αντισωμάτων στο έντερο, το σάλιο και τον ορρό των νεογνών. Μειώνουν την παρουσία των παθογόνων βακτηρίων στον εντερικό και σε άλλους βλεννογόνους.
Flora Bac (PDI labs)	Σταθεροποιημένα Bifidobacteria, L.acidophilus, Lactobacillus sporogenes και ενζυματικά βακτήρια BaCCine	
Flora Grow (Arise & Shine)	Bifidobacterium bifidum Bifidobacterium longum Bifidobacterium infantis	Ρυθμίζει το pH μεταξύ 6,5 – 7,0
Kyo-Dophilus tablets (Wakunaga probiotics)	Lactobacillus acidophilus	Συντήρηση σε χαμηλές θερμοκρασίες
Kyo-Dophilus capsules (Wakunaga probiotics)	Lactobacillus acidophilus Bifidobacterium bifidum Bifidobacterium longum	Περιέχει είδη που έχουν απομονωθεί από τον άνθρωπο σε περιεκτικότητα $15 \cdot 10^7$ κύτταρα / κάψουλα
Probiota tablets	Lactobacillus acidophilus	Περιέχει βακτήρια απαραίτητα για την ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας του ανθρώπου. Ανθεκτικό στην θέρμανση, δεν χρειάζεται ψύξη.

Όνομα προϊόντος	Σύσταση σε προβιοτικά	Περιγραφή κ ιδιότητες
Replenish (Innercleanse)	Lactobacillus acidophilus Lactobacillus plantarum Lactobacillus bifidus Lactobacillus bulgaricus Lactobacillus rhamnosus Lactobacillus casei Lactobacillus brevis, FOS (fructo-oligosaccharides)	Μειώνει την πίεση του αίματος και την ολική χοληστερόλη και αυξάνει την καταπολέμηση των παθογόνων βακτηρίων.
Subalin	Γεννητικά ανασυνδυασμένα προβιοτικά στελέχη (Bacillus subtilis)	
Symbiotik capsules (Le Sante)	Lactobacillus sporogenes	Χρησιμοποιείται σε μολύνσεις του αναπνευστικού, του δέρματος και του ουροποιητικού σωλήνα
Symbiotik-P tablets (Le Sante)	Lactobacillus sporogenes	Όπως παραπάνω
Th1 Probiotics (Jarrow tablets)	Bifidobacterium longum Lactobacillus casei Lactobacillus plantarum	Χρησιμοποιείται σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς.
VSL#3 (CSL)	3 είδη Bifidobacterium 4 είδη Lactobacillus 1 είδος Streptococcus salivarius ssp.thrmophilus	Βοηθά στην ελκώδη κολίτιδα

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η εντερική μικροχλωρίδα αντιπροσωπεύει μια τεράστια βιομάζα της τάξεως των 10^{14} βακτηριακών κυττάρων, που υπολογίζεται ότι περιλαμβάνουν πάνω από 400 διαφορετικά είδη. Αυτό το ποικιλόμορφο μικροβιακό περιβάλλον συμβάλλει αποφασιστικά στην διεκπεραίωση σημαντικών μεταβολικών δραστηριοτήτων, ιδιαίτερα αυτών που πραγματοποιούνται στο κόλον, γεγονός που το καθιστά ένα ιδιαίτερα σημαντικό σύστημα για την φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού (14).

Ο γαστρεντερικός σωλήνας, συγκεκριμένα, είναι ένας εξειδικευμένος λειτουργικά σωλήνας που αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό σαφώς διακεκριμένων ανατομικών περιοχών. Η υπάρχουσα φυσική μικροχλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος διαφέρει σημαντικά από περιοχή σε περιοχή. Έτσι το στομάχι και το λεπτό έντερο αποικίζονται από ένα σχετικά μικρό αριθμό βακτηριακών πληθυσμών (πιθανότατα λόγω του όξινου pH και του μικρού χρόνου διέλευσης της πεπτόμενης τροφής διαμέσου αυτών) σε αντίθεση με το παχύ έντερο στο οποίο βρίσκεται εγκατεστημένος ένας εκπληκτικά μεγάλος αριθμός βακτηριακού φορτίου (4, 15, 16).

Η εντερική μικροχλωρίδα των νεογνών είναι αρχικά αρκετά απλή ενώ περαιτέρω ανάπτυξη της επηρεάζεται σημαντικά από την ηλικία και τις διατροφικές συνήθειες που αναπτύσσονται (2, 6). Συγκεκριμένα, υπάρχουν πολλοί εξωγενείς αλλά και ενδογενείς παράγοντες που επηρεάζουν τον εντερικό αποικισμό. Έτσι, οι κυριότεροι εξωγενείς παράγοντες είναι το μικροβιακό φορτίο του άμεσου περιβάλλοντος, οι διατροφικές συνήθειες και η σύνθεση της μητρικής μικροχλωρίδας ενώ στους ενδογενείς παράγοντες συγκαταλέγονται η φυσιολογία του ξενιστή, η διάρκεια της κύησης (2, 14), τα ενδογενή θρεπτικά συστατικά και η μικροβιακή χλωρίδα. Η παρουσία και η μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών που αποικίζουν το έντερο διαδραματίζει αποφασιστικό ρόλο στην διατήρηση της ισοροπίας όσον αφορά στην υγεία του οργανισμού και στις ασθένειες που πιθανόν εμφανιστούν. Έτσι, αρχικά, η μικροβιακή χλωρίδα του γαστρεντερικού σωλήνα φαίνεται να παίζει πρωτεύοντα ρόλο στην διαδικασία συμπλήρωσης πιθανών ελλείψεων του μηχανισμού πέψης και αφομοίωσης των τροφών.

Εξελικτικά είναι ο λειτουργικός κρίκος που συνδέει τον άνθρωπο με την τροφή του.

Στο σημείο αυτό εισάγεται ο πρωτεύοντας ρόλος που διαδραματίζουν οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί στην ανάπτυξη και τροποποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας των βρεφών, και όχι μόνο. Ως προβιοτικά ορίζονται ζωντανά μικροβιακά συστατικά των τροφών τα οποία γενικότερα ευνοούν και προάγουν την υγεία (18), ενώ τα βακτηριακά γένη που χρησιμοποιούνται περισσότερο συχνά ως προβιοτικά είναι τα *lactobacilli* και τα *bifidobacteria* και τα κυριότερα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για την κατάταξη ενός μικροοργανισμού στην ομάδα των προβιοτικών είναι : 1) ικανότητα επιβίωσης παρουσία της χολής και σε συνθήκες χαμηλού pH κατά τη διέλευση διαμέσου του γαστρεντερικού σωλήνα, 2) υποστήριξη των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων, 3) σταθεροποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας, 4) μη-παθογονικές ιδιότητες, 5) ικανότητα συντήρησης μέσα στα τρόφιμα και πιθανότητα φαρμακευτικής παραγωγής τους, 6) γρήγορος πολλαπλασιασμός τους και αποικισμός (άλλοτε προσωρινός, άλλοτε μόνιμος) του γαστρεντερικού σωλήνα, 7) συμβατότητα κατά γένος (19, 20).

Όσον αφορά στην συσχέτιση των προβιοτικών με κλινικά περιστατικά και οργανικές δυσλειτουργίες, έχει βρεθεί ότι τα τελευταία μπορούν να βοηθήσουν αποτελεσματικά στην άμβλυνση και την αποκατάσταση πολλών νοσηρών καταστάσεων όπως η δυσανοχή στην λακτόζη, η διάρροια (ποικίλης αιτιολογίας), οι διαφόρων μορφών γαστρεντερίτιδες, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου και το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου, η εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων και μικροβιακών λοιμώξεων, ο καρκίνος του παχέος εντέρου, η υπερλιπιδαιμία αλλά και οι διάφορες ηπατικές νόσοι. Λόγω του ότι μέχρι τώρα έχουν γίνει πολλές μελέτες που υποστηρίζουν την χρήση των προβιοτικών τόσο στην πρόληψη όσο και στην θεραπεία διάφορων ασθενειών, τα τελευταία χρόνια υπάρχει αυξανόμενο επιστημονικό ενδιαφέρον για την ένταξη των προβιοτικών στις μεθόδους αντιμετώπισης παθολογικών καταστάσεων. Έτσι πολλές βιομηχανίες τροφίμων και φαρμάκων σπεύδουν να δημιουργήσουν νέα προϊόντα με προβιοτικούς οργανισμούς. Οι κύριοι στόχοι των επιστημόνων είναι η ανακάλυψη προβιοτικών βακτηρίων, τα οποία να βελτιώνουν την γενική κατάσταση υγείας του εντέρου και τις γενικότερες άμυνες του οργανισμού ενώ οι περισσότερες

προσπάθειες εντοπίζονται στην βελτίωση της λειτουργικής δράσης των προβιοτικών μέσω αλλαγών στην επιλογή και την παραγωγή των παραπάνω.

Εκτός, όμως από τους προβιοτικούς μικροοργανισμούς, τα τελευταία χρόνια, παρατηρείται ένα ολοένα αυξανόμενο ενδιαφέρον και για τα πρεβιοτικά. Ως πρεβιοτικά χαρακτηρίζονται τα άπεπτα συστατικά των τροφών (διαιτητικές ίνες) που ασκούν κάποιου είδους ευεργετική βιολογική επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό ενεργοποιώντας επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και την δραστηριότητα ωφέλιμων μικροοργανισμών που είτε είναι παρόντες στο έντερο είτε εισάγονται σε αυτό κατά την διάρκεια κάποιας θεραπευτικής διαδικασίας (19). Οι κύριοι εκπρόσωποι αυτής της ομάδας είναι οι φρουκτοολιγосακχαρίτες και οι ινουλίνες ενώ έχει βρεθεί, από μια πληθώρα ερευνών, ότι ασκούν ευεργετικές επιδράσεις στο γαστρεντερικό σύστημα και όχι μόνο μιας και έχουν συσχετισθεί με την μείωση του κινδύνου εμφάνισης αθηροσκληρωτικών καρδιαγγειακών νοσημάτων (πιθανόν λόγω και της υπολιπιδαιμικής τους δράσης), με την αντιμετώπιση της δυσκοιλιότητας αλλά και της διάρροιας (κυρίως εξαιτίας εντερικών λοιμώξεων), με την μείωση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης, παχυσαρκίας και σακχαρώδους διαβήτη τύπου II αλλά και με την προστασία εναντία στον καρκίνο, κυρίως του παχέος εντέρου.

Οι ευεργετικές αυτές επιδράσεις προβιοτικών και πρεβιοτικών έχουν αρχίσει και μελετώνται εδώ και πάρα πολύ καιρό, και συνεχίζουν ακόμα, με την χρήση διαφόρων μεθόδων. Η μέθοδος όμως που χρησιμοποιείται σήμερα περισσότερο από τους ερευνητές είναι αυτή της εκτίμησης της εντερικής διαπερατότητας μέσω μέτρησης της ουρικής απέκκρισης διάφορων σακχάρων (κυρίως της λακτουλόζης και της μαννιτόλης) σε υγιή και ασθενή άτομα κάθε ηλικίας μετά την χορήγηση διαλυμάτων προκαθορισμένης σύστασης. Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί έναντι άλλων που είχαν χρησιμοποιηθεί παλιότερα γιατί πληρεί ικανοποιητικά όλα τα απαραίτητα κριτήρια (321 – 322), μιας και τα χρησιμοποιούμενα σάκχαρα έχουν αμελητέα σχέση με το σύστημα μεταφοράς των μονοσακχαριτών, απορροφώνται παθητικά και δεν μεταβολίζονται πριν την απέκκριση τους στα ούρα με αποτέλεσμα τυχόν διαφοροποιήσεις στην γαστρική εκκένωση, στην εντερική μεταφορά, την ροή αίματος, την νεφρική λειτουργία και, τέλος, την ουρική απέκκριση να περιορίζονται (320).

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφέρουμε ότι ένας άλλος τομέας ο οποίος πρέπει να ενισχυθεί με μελλοντική έρευνα είναι και ο συνδυασμός προβιοτικών και πρεβιοτικών σε διάφορα σκευάσματα, που απευθύνονται κυρίως σε παιδιά, προκειμένου το τελικό προϊόν να προσομοιάζει κατά το δυνατόν περισσότερο στο μητρικό γάλα, το οποίο, λόγω της μοναδικής του σύστασης, αποτελεί το πλέον ιδανικό προϊόν σίτισης για τα παιδιά. Επίσης μια σημαντική πρόκληση για την επιστημονική κοινότητα παραμένει η επιλογή και ο σχεδιασμός των προβιοτικών. Στον τομέα αυτό πρέπει να γίνουν περαιτέρω έρευνες προκειμένου να επιλεγθούν τα καλύτερα είδη και η ενδεδειγμένη ποσότητα ενώ κρίνεται επιτακτική και η ανάγκη για την ανάπτυξη των κατάλληλων φορμουλών και των ενδεδειγμένων τρόπων χορήγησης στις διάφορες μορφές κλινικών καταστάσεων. Επίσης, συνετό θα ήταν να διερευνάται και η αντοχή των προβιοτικών στα αντιβιοτικά, οι πιθανές αλληλεπιδράσεις τους με άλλα συστατικά της τροφής, αντιβιοτικά ή άλλα προβιοτικά καθώς και οι πιθανές παρενέργειες μετά από την χορήγησή τους τόσο σε υγιή όσο και σε πάσχοντα άτομα. Αυτό βέβαια προϋποθέτει πως θα πρέπει να γίνεται αυστηρός έλεγχος της χορηγούμενης δόσης ανάλογα με το είδος του προβιοτικού, τον σκοπό χορήγησης και τις δυνατές αλληλεπιδράσεις, είτε με άλλο μικροοργανισμό είτε με κάποιο από τα συστατικά του τροφίμου (343 – 345). Επιπλέον, στο σημείο αυτό, θα πρέπει να γίνουν περαιτέρω μελέτες για τις επιπτώσεις της χορήγησης μεγάλων ποσών βακτηρίων, τα οποία έχουν εκτενώς μελετηθεί από μικροβιολογικής άποψης, στην απορρόφηση, τον μεταβολισμό και την διάρκεια δράσης των προβιοτικών.

Τα τελευταία χρόνια, στην αγορά, υπάρχει μια τεράστια ποικιλία λειτουργικών τροφίμων [προϊόντα που περιλαμβάνουν, εκτός από το γάλα και το γιαούρτι, ξυνόγαλα, ξινή κρέμα, οξυδόφιλο γάλα, κατεψυγμένα επιδόρπια, μπισκότα, κρέμες, χυμούς, σνακς, ποτά εμπλουτισμένα με ασβέστιο, γλυκίσματα χαμηλών θερμίδων, τσίχλες και άλλα (348 – 350) και τα οποία περιέχουν μπιφιντοβακτήρια αλλά και μεικτές καλλιέργειες μπιφιντιβακτηρίων και άλλων βακτηρίων του γαλακτικού οξέος) αλλά και σκευασμάτων που περιέχουν προβιοτικά και κυκλοφορούν είτε με την μορφή κάψουλων ή ταμπλετών είτε με την μορφή διαλυμάτων. Στα σκευάσματα αυτά μπορεί να

συνυπάρχουν καταβολικά μεταβολικά ένζυμα, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, αντιοξειδωτικά ένζυμα, φρουτοολιγοσακχαρίτες, καθώς και αντιβιοτικά. Η ειδική σύσταση του κάθε σκευάσματος το καθιστά κατάλληλο για κάποια ηλικία ή κλινική κατάσταση (348), ενώ τα περισσότερα από αυτά χρησιμοποιούνται κυρίως στη θεραπεία γαστρεντερικών νοσημάτων. Τα τελευταία χρόνια, στην αγορά, υπάρχει μια τεράστια ποικιλία σκευασμάτων που περιέχουν προβιοτικά και κυκλοφορούν είτε με την μορφή κάψουλων ή ταμπλετών είτε με την μορφή διαλυμάτων. Στα σκευάσματα αυτά μπορεί να συνυπάρχουν καταβολικά μεταβολικά ένζυμα, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, αντιοξειδωτικά ένζυμα, φρουτοολιγοσακχαρίτες, καθώς και αντιβιοτικά. Η ειδική σύσταση του κάθε σκευάσματος το καθιστά κατάλληλο για κάποια ηλικία ή κλινική κατάσταση (348), ενώ τα περισσότερα από αυτά χρησιμοποιούνται κυρίως στη θεραπεία γαστρεντερικών νοσημάτων.

Τέλος, μιας και η χρήση όλων αυτών των σκευασμάτων απασχολεί ευρύτατα, τα τελευταία χρόνια, την επιστημονική κοινότητα θα πρέπει ο τομέας αυτός να ενισχυθεί με περαιτέρω και καλύτερα οργανωμένη επιστημονική έρευνα προκειμένου να τεκμηριωθεί η ευεργετική (ή μη) δράση αυτών των προϊόντων στην βελτίωση ή/και την αποκατάσταση διάφορων παθολογικών καταστάσεων και γενικότερα στην καλύτερη ποιότητα ζωής παιδιών και ενηλίκων.

Βιβλιογραφία :

1. Orrhage K, Nord CE. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Paediatr. Suppl.* 1999 Aug; 88 (430) : 47 – 57.
2. Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT. Variation in human intestinal microbiota with age. *Dig Liver Dis.* 2002 Sept; 34 Suppl 2: S12 – 18.
3. Bennet. Transient colonization of the gut of newborn infants by orally administered bifidobacteria and lactobacilli. *Acta Paediatr* 1992; 81: 784 – 787.
4. Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am. J. Clin Nutr* 1999;69 (suppl): 1046S – 51S.
5. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv. Pediatr.* 1999;46: 353 – 382.
6. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Εργαστήριο Μικροβιολογίας – Σημειώσεις «Η κανονική Μικροβιακή Χλωρίδα» (2000).
7. Lebenthal E, Heitlinger LA, Lee PC. Development of the gastrointestinal tract. *J Pediatr* 1983;102: 1 – 9.
8. Hamosh M. Digestion in the newborn. *Clin Perinatol* 1996;23: 191 – 209.
9. Lebenthal E. *Human Gastrointestinal Development.* 1989. Raven Press, New York.
10. Lebenthal E, Lebenthal A. The ontogeny of the small intestinal epithelium. *J Parenter Enter Nutr.* 1999;23: S3 – S6.
11. Berseth CL. Gastrointestinal motility in the neonate. *Clin Perinatol.* 1996;23: 179 – 190.
12. Ellen V. Rouwet, Erik Heinem, Wim A. Buurman et al. Intestinal permeability and carrier-mediated monosaccharide absorption in preterm neonates during the early postnatal period. *Pediatr Res.* 2002;51: 64 – 70.

13. Mountzouris KC, Mc Cartney AL, Gibson GR. Intestinal microflora of human infants and current trends for nutritional modulation. *Br. J Nutr.* 2002;87 (5): 405 – 20.
14. RM van Elburg, WPF Fetter, CM Bunkers et al. Intestinal permeability in relation to birth weight and gestational and postnatal age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal ED.* 2003;88: 193 – 197.
15. Lenoir W, Hopkins M et al. The intestinal microflora. *Understanding the Symbiosis* (2003).
16. Stenberg P. 2001. Computational Models for the Prediction of Intestinal Permeability. *Acta Universitatis Upsalensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy* 247. 66 pp. Uppsala. ISBN 91 – 554 – 4934 – 4.
17. Bullen CL, Tearle PV et al. The effect of “humanised” milks and supplemented breast feeding on the faecal flora of infants. *J. Med Microb.* 1977;12 (4): 403 – 13.
18. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr.* 1998;80 (suppl): S147 – 71.
19. Przemysław Jan Tomasik, Piotr. Tomasik. Probiotics and prebiotics. *Cereal Chem.* 2003;80 (2): 113 – 117.
20. Barry R. Goldin. Health benefits of probiotics. *Br J Nutr.* 1998;80 (suppl) 2: S203 – S207.
21. Marcel B Roberfroid. Prebiotics and probiotics : are they functional foods ?. *Am J Clin Nutr.* 2000;71: (suppl) : 1682S – 7S.
22. Sanders ME. Summary of the conclusions from a consensus panel of experts on health attributes on lactic cultures: significance to fluid milk products containing cultures. *J Dairy Sci.* 1993;76: 1819 – 28.
23. Marteau P, Rambaud JC. Potential for using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man. *FEMS Microbiol Rev.* 1993;12: 207 – 20.
24. Salminen S, Isolauri E, Salminen E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Antonie van Leeuwenhoek* 1996;5: 29 – 30.

- 25.** Mortomi M. Properties of *Lactobacillus casei* Shirota strains as probiotics. *Asia Pac J Clin Nutr.* 1996;5: 29 – 30.
- 26.** Kolars JC, Levitt MD et al. Yogurt – an autodigesting source of lactose. *N Engl J Med.* 1984;310: 1 – 3.
- 27.** Montes RG, Saavedra JM, Bayless TM, Perman JA. Effect of milks inoculated with *Lactobacillus acidophilus* or a yogurt starter culture in lactose – maldigesting children. *J Dairy Sci.* 1995;62: 1003 – 6.
- 28.** Shermak MA, Saavedra JM, Jackson TL, Huang SS, Bayless TM, Perman JA. Effect of yogurt on symptoms and hydrogen production in lactose – malabsorbing children. *Am J Clin Nutr.* 1995;62: 1003 – 6.
- 29.** Marteau P, Messing B, Arrigoni E, Briet F et al. *J. C. Nutrition,* 1997;13: 13 – 6.
- 30.** Kilara A, Shahani K. *Dairy Sci,* 1975;59: 2031 – 5.
- 31.** Gilliland S.E, Kim H.S.J. *Dairy Sci,* 1984;67: 1 – 6.
- 32.** Kolars J.C, Levitt M.D et al. *Engl. J. Med,* 1984;310: 1 – 3.
- 33.** Marteau P, Flourie B, Pochart P, Chastang C et al. *Br. J. Nutr.,* 1990;64: 71 – 9 .
- 34.** Martini M, Kukiela D, Savaiano D.A. *Am. J. Clin. Nutr.,* 1991;53: 1253 – 8.
- 35.** Sanders M. *Healthful attributes of bacteria in yogurt, General Mills: Minneapolis, MN* 1993.
- 36.** Sanders M. In *Functional Foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals,* I Goldberg, ed.; Chapman & Hall: New York, 1994, pp. 294 – 322.
- 37.** Lin M.J, Savaiano D, Harlander S.J. *Dairy Sci,* 1991;71: 87 – 95.
- 38.** Shermak M.A, Saavedra J.M, Jackson T.L et al. *Am. J. Clin. Nutr.,* 1995;62: 1003 – 6.
- 39.** A. Mercenier, S. Pavan, B. Pot. Probiotics as biotherapeutic agents: knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design.* 2002;8: 99 – 110.
- 40.** Gotz V., Romankiewicz J.A, Moss J., Murray H.W. *Am. J. Hosp. Pharm.,* 1979;36: 754 – 757.
- 41.** Siitonen S, Vapaatalo H, Salminen S, Gordin A, Saxelin M et al. *Ann Med,* 1990;22: 57 – 9.

42. Contardi I. Clin. Ter., 1991;136: 409 – 14.
43. Surawicz C.M, Elmer G.W, Speelman P. et al. Gastroenterology, 1989;96: 981 – 8.
44. Elmer G.W, Surawicz C.M, McFarland L.V. JAMA, 1996;39: 13 – 126.
45. Saavedra J.M. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 1995;21: 125 – 9.
46. Brunser, O.; Araya, M.; Espinoza, J.; Guersy P.R.; Secretin, M.C.; Pacheco I. Acta Paediatr Scand 1989; 78: 259 – 64.
47. Roggero, p.; Volpe, C.; Ceccatelli, M.P.; Lambri, A.; Guiliani, M.G.; Donattini, T.; Caravaglia, M.C.; De Vincentiis, A. Minerva Pediatr 1990 ; 42 : 147 – 50.
48. Boudra, G.; Touhami, M.; Pochart, P. ; Soltana, R. ; Mary, J.Y. ; Desjeux, J.F. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1990 ; 11 : 509 – 12.
49. Touhami, M.; Boudraa, G.; Mary, J.Y. ; Soltana, R. ; Desjeux, J.F. Ann Pediatr (paris) 1992; 39: 79 – 86.
50. Millar, M.R.; Bacon, C.; Smith, S.L.; Walker, V.; Hall, M.A. Arch Dis Child 1993; 69: 483 – 7.
51. Pearce , J. L.; Hamilton , J.R. J Pediatr 1974; 84: 261 – 2.
52. Chicoine, L.; Joncxas, J.H. Union Med Can 1973; 102: 1114 – 5.
53. Mitra, A.K.; Rabbani, G.H. Gastroenterology 1999; 99: 1149 – 52.
54. Isolauri, E.; Juntunen, M.; Rautanen, T. ; Sillanaukee, P. ; Koivula, T. Pediatrics 1991 ; 88 : 90 – 7.
55. Kaila, M. ; Isolauri, E. ; Soppi, E. ; Virtanene , E. ; Laine, S. ; Arvillomi, H. Pediatr Res 1992 ; 32 : 141 – 4.
56. Majamaa, H. ; Isolauri, E. ; Saxelin, M. ; Vesikari, T. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1995 ; 20 : 338 – 8.
57. Isolauri, E. ; Kaila, M. ; Mykkanen, H. ; Ling, W.H. ; Salminen, S. Dig Dis Sci 1994 ; 39 : 2595 – 600.
58. Raza, S.; Graham, S.M.; Allen, S.J.; Sultana, S.; Cuevas, L.; Hart, C.A. Pediatr Infect Dis J 1995; 14: 107 – 11.
59. Pant, A.R.; Graham, S.M.; Allen, S.J.; Harikul, S.; Sabchareon, A.; Cuevas, L.; Hart, C.A. J Trop Pediatr 1996; 42: 162 – 5.
60. Guarino, A.; Canani, R.B.; Spagnuolo, M.I.; Albano, F.; Di

- Benedetto, L. J. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 25: 516 – 9.
61. Shornikova, A.V.; Isolauri, E.; Burkanova, L.; Lukonikova, S.; Vesikari, T. *Acta Pediatr* 1997; 86: 460 – 5.
 62. Guandalini, S.; Pensabene, L.; Zikri, M.A. et al. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000 ; 30 : 54 – 60.
 63. Sugita, T.; Togawa, M. *Jpn Pediatr* 1994 ; 47 : 2755 – 62.
 64. Buydens P, Debeuckalaere, S. *Scand J. Gastroenterol.*, 1996;31: 887 – 91.
 65. Bellomo, G.; Mangiagale, AA.; al., L. N. e. *Curr. Ther. Res.*, 1980;28: 927 – 6.
 66. Camarri, E.; Belvisi, A.; Guidoni, G.; Marini, G.; Figerio, G. *Chemotherapy*, 1981;27: 466 – 470.
 67. Wunderlich, P. F.; Braun, L.; Fumagalli, I.; D'Apuzzo, V.; Heim, F.; Karly, M. et al. *J. Int. Med. Res.*, 1989;17: 333 – 8.
 68. Saavedra, Bauman, Oung, Perman, Yolken. *Lancet*, 1994;344: 1046 – 9.
 69. Jose M Saavedra. Clinical applications of probiotic agents. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (suppl): 1147s – 51s.
 70. Majamma H, Isolarui E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 333 – 8.
 71. Gorbach, S.L.; Chang, T. W.; Goldin, B. *Lancet*, 1987;2: 1519.
 72. Kimmey, M. B.; Elmer, G. W.; Surawicz, C. M.; MacFarland, L. V. *Dig. Dis. Sci.*, 1990;35: 897 – 901.
 73. Buts, J. P.; Cortier, G.; Delmee, M. J. *Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1993;16: 419 – 25.
 74. Surawicz, C. M.; MacFarland, L. V.; Elmer, G.; Chinn, J. *Am. J. Gastroenterol.*, 1989;84: 1285 – 7.
 75. Biller, J. A.; Katz, A. J.; Flores, A. F.; Buie, T. M.; Gorbach, S. L. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1995;21: 224 – 6.
 76. Bennet, R.; Gorbach, S.; al., B. G. e. *Nutr. Today*, 1996;31 (suppl), 35S – 8S.
 77. Levy, J. *Gastroenterology*, 1997;112:A379(abstr).

78. Vanderhoof, J.A; Young, R.J.; Murray, N.; Kaufman, S. S. J Pediatr Gastroenterol Nutr 198-98; 27: 155 – 60.
79. Attar, A.; Flourie, B.; Rambaud, J.C.; Franchisseur, C.; Ruszniewski, P.; Bouhnik, Y. Gastroenterology 1999; 117: 794 – 7.
80. Tempe, J.D.; Steidel, A.L.; Blehaut, H.; Hasselmann, M.; Lutun, P.; Maurier, F. Sem. Hop 1983; 59: 1409 – 12.
81. Schlottere, M.; Beraasconi, P.; Leberton, F.; Wasswrmann, D. Nutr Clin Metab 1987; 1: 31 – 4.
82. Bleicher, G.; Blehaut, H.; Mentee, H.; Moyse, D. Intesive Care Med 1997; 27: 517 – 23.
83. Salminen, E.; Elomaa, I.; Minkkinen, J.; Vapaatalo, H.; Salminen, S. Clin Radiol 1988; 39: 435 – 7.
84. Sartor, R. B. Gastroenterol. Clin. North Am., 1995; 24: 475 – 507.
85. Shanahan, F. Lancet, 2002;359: 62 – 69.
86. Hendrickson, B. A.; Gokhale, R.; Cho, J. H. Clin. Microbiol. Rev., 2002;15: 79 – 94.
87. Malin, m.; suomalainen, H.; Saxeli, M.; Isolauri, E. Ann. Nutr. Metab., 1996;40: 137 – 45.
88. Plein, K.; Hotz, J. Z. Gastroenterol., 1993;31: 129 – 34.
89. Kruis, W.; Schutz, E.; Fric, P.; Fixa, B.; Judmaier, G.; Stolte, M. Aliment. Pharmacol. Ther., 1997;11: 853 – 8.
90. Rembacken, B. J.; Snelling, A. M.; Hawkey, P. M.; Chalmers, D. M.; Axon, A. T. Lancet, 1999;354: 635 – 9.
91. Gupta, P.; Andrew, H.; Kirschner B.S.; Guandalini, S.J. Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 31: 453 – 7.
92. Guslandi, M.; Mezzi, G.; Sorghi, M.; Testoni, P.A. Dig Dis Sci 2000; 45: 1462 – 4.
93. Malchow, H.A. J Clin Gastroenterol 1997; 25: 653 – 8.
94. Venturi, A.; Gionchetti, P.; Rizzello, F.; Johansson, R.; Zucconi, E.; Brigidi, P.; Matteuzzi, D.; Campieri, M. Aliment Pharmacol Ther 1999; 13:1103 – 8.
95. Mattila-Sandholm, T.; Blum, S.; Collins, J.; Crittendern, R. Trends Food Sci Technol 1999; 10: 393 – 9.

96. Rusler-van Embeden, J.G.; Schouten, W.R.; van Lieshout, L.M. Gut 1994; 35: 658 – 64.
97. Naidu A, Bidlack S, Clemens R. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 1999;39: 13 – 126.
98. Sanders, M. E.; Huis in't Veld, J. Antonie Van Leeuwenhoek, 1999;76: 293 – 315.
99. Sanders, M. Int. Dairy J., 1998;8: 341 – 347.
100. Sanders , M. In Probiotics, Prebiotics and new Foods: Rome, Italy, 2001, pp. 27 – 30.
101. Strachan, D. P. Thorax., 2000, 55 Suppl. 1, S2 – 10.
102. Moreau , M.; Gaboriau-Routhiau , V. In Probiotics , R Fuller; G Perdigon, eds.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 2000; Vol. 3, pp. 69 – 114.
103. Wold, A. E. Allergy, 1998;53: 20 – 25.
104. Bjorksten, B.; Naaber , P.; Seep, E.; Mikelsaar, M.; Clin Exp Allergy 1999; 29: 342 – 6.
105. Kalliomaki , M.; Salimen, S.; Arvilommi, H.; Kero, P.; Koskinen, P.; Isolauri, E. Lancet 2001; 357: 1076 – 9.
106. Halpern, G.M.; Prindiville , T.; Blankenburg, M.; Hsia , T.; Gershwin, M.E. Am J Gastroenterol 1996; 91: 1579 – 85.
107. Marteau, P.; Pochart, P.; Bouhnik, Y.; Rambaud, J.C. Word Rev Nutr Diet 1993; 74: 1- 21.
108. Delforge, M.; Maupas, J.L.; Champemont, P. Rev Med Liege 1983; 38: 885 – 8.
109. Hirayama , K.; Rafter, J. Microbes Infect 2000; 2: 681 – 6.
110. Rafter, J. J Scand J Gastroenterol 1995; 30: 497 – 502.
111. DuPont, H.L. Am J Gastroenterol 1997; 92: 1962 – 75.
112. DuPont , H.L.; Ericsson, C.D.N. Engl. J Med 1993; 328: 1821-7.
113. Warram , J.H.; Gomez , R.G.; Cavazos, M.G. Gastroenterol 1978;74: 829 – 30.
114. Kollaritsch, v.H.; Stemberger, H.; Ambroch, P.; Wiedermann, G 1983, pp. Abstract 92
115. Katelaris, P.; Salam, I.; Farthing, M.J.N. Engl J Med 1995; 333: 1360 – 1.

116. Black, F.; Anderson , P.; Orskov, J. J Travel Med 1989; 7: 333 – 5.
117. Kollartisch, H.; Holst, H.; Grobara, P.; Wiedermann, G. Fortschr Med 1993; 111: 152 – 6.
118. Oksanen, P.J.; Salminen , S.; Saxelin , M.; Hamalainen, P.; Ihanntola-Vormisto, A.; Oksanene, T.; Porsti, I.; Salminen, E. Ann Med 1990; 22: 53 – 6.
119. Hilton, E.; Kolakowski, P.; Singer, C.; Smith, M.J. Travel Med 1997; 4: 41 – 43.
120. Karita, M.; Li, Q.; Cantero, D.; Okita, K. Am J Gastroenterol 1994; 89: 208 – 13.
121. Midolo, P.D.; Lambert, J.R. ; Hull , R.; Luo, F.; Grayson, M.L. Appl Bacteriol 1995; 79: 475 – 9.
122. Bazhenov, L.G.; Bondarenko, V.M.; Lykova, E.A.; Ogai, D.K. Zh Microbiol Epidemiol Immunobiol 1997; 89 – 91.
123. Kabir, A.M.; Aiba, Y.; Takagi, A.; Kamiya, S.; Miwa, T.; Koga, Y. Gut 1997; 41: 49 –55.
124. Wendakoon , C.; Fedio, W.; Macleod, A.; Ozimek, L. Milchwissenschaft 1998; 53: 499 – 502.
125. Bazzoli, F .; Zagari, R. Gastroenterology 1992; 102: A38(abstr).
126. Michetti, P.; Dorta, G.; Wiesel, P.H.; Brassart, D.; Verdu , E.; Herranz, M.; Blum, A.L. Digestion 1999; 60: 203 – 9.
127. Coconnier, M.H.; Lievin, V .; Hemery, E. ; Servin, A.L. Appl Envirom Microbiol 1998; 64: 4573 – 80.
128. Falley, C.; Rivero, J.L.; Sipponen, P.; Kaufmann, M.; Wiesel, P. Eur J Gastroenterol Hepatol 2001; 13: 25 – 9.
129. Wendakoon, C.N.; Thomson, A .B. ; Ozimek, L. Digestion 2002; 65: 16 – 20.
130. Basschaert , M.; Kusters, J.; Pot, R.; Sako, F.; Veld, J.H.i.t. In SOMED: Amstredam, The Netherland, 1999.
131. Armuzzi , A.; Cremonini, F .; Bartolozzi, F.; Canducci, F.; Candelli, M.; Ojetti, V.; Cammarota, G.; Anti, M.; De Lorenzo, A.; Pola, P.; Gasbarrini, G.; Gasbarinni, A. Alliment Pharmacol Ther 2001; 15: 163 – 9.

132. Armuzzi, A.; Cremonini, F.; Ojetti, V.; Bartolozzi, F.; Canducci, F.; Candelli, M.; Santarelli, L.; Cammarota, G.; De Lorenzo, A.; Pola, P.; Gasbarinni, G.; Gasbarinni, A. *Digestion* 2001; 63: 1 – 7.
133. Paubert-Braquet, M.; Gazn, X.; Gaudichon, C.; Hedef, N.; Serikoff, A.; Bouly, C.; Bonavida, B. *J Immunother* 1995; 21: 153 – 61.
134. Link-Amste, H.; Rochat, F.; Saudan, K.Y. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994; 10: 55 – 63.
135. Marteau, P.; Vaerman, J.P.; Dehenin, J.P.; Bord, S.; Brassart, D.; Pochart, P.; Desjeux, J.F. *Gastroenterol Clin Biol* 1997; 21: 293 – 8.
136. Schiffrin, E.J.; Rochat, F.; Link-Amster, H.; Aeschlimann, J.M.; Donnet-Hughes A.J. *Dairy Sci* 1995; 78: 491 – 7.
137. Mann, G.V. A, *J Clin Nutr* 1974; 27: 464 – 9.
138. Mann, G.V. *Atherosclerosis* 1977; 26: 335 – 40.
139. Hepner, G.; Freid, R.; Jeor, S.S.; Fusetti, L.; Morin, R. *Am J Clin Nutr* 1979; 32 : 19 – 24.
140. Anderson, H.; Bosaeus, I.; Ellegard, L.; Grahn, E.; Tidehag, P.; Hallmans, G.; Holm, S. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49 : 274 – 81.
141. Agerbaek, M.; Gerdes, L.U. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: 346 – 52.
142. Richelsen, B.; Kristensen, K.; Pedersen, S.B. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50: 811 – 5.
143. Jackson TG, Taylor GRJ, Clohessey AM, et al. The effects of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin and glucose concentrations in middle-aged men and women. *Br J Nutr* 1999; 89: 23 – 30.
144. Oksanen PJ, Salminen S, Saxelin M, Hamalainen P, Toppila A et al. Prevention of travellers diarrhea by *Lactobacillus GG*. *Annals of Medicine* 1990; 22: 53 – 56.
145. Kirjavainen PV, Arvola T, Salminen SJ, Isolauri E. Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? *Gut* 2002; 51: 51 – 55.
146. Hatakka K, Savilahti E, et al. Effect of long term consumption of

- probiotic milk on infections in children attending day care centers: double blind, randomised trial. *BMJ* 2001; 322: 1 – 5.
- 147.** Klahorst S.J. 2000. Food Product Design. November issue. Weeks Publishing: Northbrook, IL.
 - 148.** Roberfroid MB, Delzenne N. Dietary Fructans. *Annu Rev Nutr* 1998; 53:3914 – 8.
 - 149.** Roberfroid MB, Van Loo JAE, Gibson JR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998; 128: 11 – 9.
 - 150.** www.gettingwell.com.
 - 151.** Schreznmeir J, De Vrese M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(suppl): 361S – 4S.
 - 152.** Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonin microbiota. Introducing the cincept of prebiotics. *J Nutr* 1995: 125: 1401 – 12.
 - 153.** Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: he European perspective. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(suppl): 1660-S – 4S.
 - 154.** Cummings JH, Roberfroid MB. A new look at dietary carbohydrate: Chemistry, Physiology and hralth. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 417 – 42.
 - 155.** Ellegard I, Anderson H, Bosaeus I. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 1 – 5.
 - 156.** Coudray C, Bellanger J, Catigila-Delavaud C, et al. Effect of soluble and partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinic in healthy goyng men. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 375 – 80.
 - 157.** E Scholz-Ahrens K, Schaafsma G, et al. Effects of prebiotics on mineral metabolism. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (suppl): 459S – 64S.
 - 158.** Ohta A, Baba S, Takizawa T, Adachi T. Effects of

fructooligosaccharides on the absorption of magnesium in the magnesium-deficient rat model. *J Nutr Sci Vitaminol* 1994 ; 40 : 171 – 80.

- 159.** Levrat M-a, Remecy C, Demigne C. High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. *J Nutr* 1991; 121:1730 – 7.
- 160.** Kleesen B, Sykura B, Blaut M. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity and bowel habit in elderly constipated persons. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1397 – 402.
- 161.** Roberfroid MB, van Loo JAE, Gibson GR. The Bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998; 128: 11 – 9.
- 162.** Cummings JH, Macfarlane GT. Gastrointestinal effects of prebiotics. *Br J Nutr* 2002; 87(suppl2): S145 – 51.
- 163.** Blaut M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. *Eur J Nutr* 2002; (suppl1): I11 – 6.
- 164.** Vigne U, Lairon D, Borel P, et al. Effect of pectin, wheat bran and cellulose on serum lipids and lipoproteins in rats fed on a low- or high fat diet. *Br. J Nutr* 1987; 58: 405 – 13.
- 165.** Overton P, Furlonger N, Beatty J, et al. The effects of dietary sugar-beet fiber and guar gum on lipid metabolism in Wistar rats. *Br J Nutr* 1994; 72: 385 – 95.
- 166.** de Deckere EA, Kloots W, van Amelsvoort JM. Both raw and retrograded starch decrease serum triacylglycerol concentration and fat accretion in the rat. *Br J Nutr* 1995; 73: 287 – 98.
- 167.** Tokunaga T, Oku T, Hosoya N. Influence of chronic intake of a new sweetener fructooligosaccharide (Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 1996; 32: 111 – 21.
- 168.** Glore S, Van Treeck D, Knehans A, et al. Soluble fiber and serum lipids: a literature review. *J Am Diet Assoc* 1994; 94: 425 –36.
- 169.** Jackson KG, Taylor GRL, Clohessy AM, Williams CM. The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin and glucose concentrations in middle-aged men and women. *Br J Nutr* 1999; 82: 23 – 30.

170. Canzi E, Brighenti FB, Casiraghi MC, Del puppo E, Ferrari A. Prolonged consumption of inulin in ready-to-eat breakfast cereals: effects on intestinal ecosystem, bowel habits and lipid metabolism. In: COST 92 Workshop. Dietary fibre and Fermentation in the Colon. Luxemburg: Office for official Publications of the European Communities 1992: 280 – 4.
171. REDDY BS, Rivenson A. Inhibitory effect of *bifidobacterium longum* on colon, mammary and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, a food mutagen. *Cancer Res* 1993; 53: 3914 – 8.
172. Gibbons GF. Assembly and secretion of hepatic VERY-LOW-DENSITY LIPOPROTEIN. *Biochem J* 1990; 268: 1 – 13.
173. Park O-J, Cesar D, Faix D, et al. Mechanisms of fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat. *Biochem J* 1992; 282: 753 – 7.
174. Ribiero A, Mangenay M, Cardot P, et al. Nutritional regulation of apolipoprotein genes: effect of dietary carbohydrates and fatty acids. *Adv Exp Med Biol* 1991; 285: 407 – 16.
175. Arbeeny CM, Meyers DS, Bergquist KE, et al. Inhibition of fatty acid synthesis decreases very-low-lipoprotein secretion in the hamster. *J Lipid Res* 1992; 33: 843 – 85.
176. Girard J, Ferre P, Foufelle F. Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Ann Rev Nutr* 1997; 17: 325 – 52.
177. Takase S, Goda T, Watanabe M. Monostearylglycerol-starch complex: its digestibility and effects on glycemic and lipogenic responses. *J Nutr* 1994; 40: 23 – 36.
178. Davidson MH, Maki KC, Synecki C, et al. Evaluation of the influence of dietary inulin on serum lipids in adults with hypercholesterolemia. *Nutr* 1998; 18: 503 – 17.
179. Katsurada A, Iritani N, Fukuda H, et al. Effects of nutrients and

- hormones on transcriptional and post-transcriptional regulation of fatty acid synthase in rat liver. *Eur J Biochem* 1990; 190: 427 – 33.
- 180.** Gibson GR. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *Br J Nutr* 1998; 80: S209 – S212.
 - 181.** Grizard D, Barthomeuf C. Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. *Reprod Nutr Dev* 1999; 39: 563 – 588.
 - 182.** Macfarlane GT, Cummings JH. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health. *West J Med* 1999; 171: 187 – 191.
 - 183.** Murosaki S, Myroyama K, Yamamoto Y, et al. Immunopotentiating activity of nigerooligosaccharides for the T-helper 1 –like immune response in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 1999; 63: 373 – 8.
 - 184.** Roberfroid MB. Health benefits of non-digestible oligosaccharides. *Adv Exp Med Bull* 1997; 427: 211 – 9.
 - 185.** Roberfroid M, Delzenne N. Dietary fructans. *Annu Rev Nutr* 1998; 18: 117 – 43.
 - 186.** Roberfroid MB. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *Br J Nutr* 1998; 80: S197 – 202.
 - 187.** Soontornchai S, et al. Lactitol tolerance in healthy Thai adults. *Eur J Nutr* 2000; 38 : 218 – 226.
 - 188.** Wang X-D, Rakshit SK. Biosynthesis of nutraceutical iso-oligosaccharides by multiple forms of transferase-produced by *Aspergillus foetidus*. *Nahrung* 2000; 44: 207 – 210.
 - 189.** Ohkusa T, Ozaki Y, Sato C, et al. Long-term ingestion of lactosucrose increases *Bifidobacterium* sp in human fecal flora. *Digestion* 1995; 56: 415 – 420.
 - 190.** Marteu P, Vesa T, Rambaud JC. Lactose malabsorption. In: Fuller R ed. *Probiotics 2: applications and practical aspects*. London: Chapman & Hall, 1997: 65 – 88.

- 191.** Goldin BR. Health benefits of probiotics. *Br J Nutr* 1998; 80: (suppl): S203 – 7.
- 192.** Van Loo J, Cummings J, Delzenne N, et al. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO projects. *Br J Nutr* 1999; 81: 121 – 32.
- 193.** Canzi E, et al. Prolonged consumption of inulin in ready-to-eat breakfast cereals: effects on intestinal ecosystem, bowel habits and lipid metabolism. EU-Cost 92, Workshop on Dietary Fiber and Fermentation in the Colon. Helsinki: Luxembourg Office for Official Publications of the European Communities, 1995; 280 – 4.
- 194.** Delzenne NM, Kokk NN. Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. *J Nutr* 1999; 129(suppl): S1467 – 70.
- 195.** Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401 – 12.
- 196.** Van de Heuvel EGHM, Muys T, Van Dokkum W, et al. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 544 – 8.
- 197.** Schiffrin E, Rochat F, Link-Amster H, et al. Immunomodulation of blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1995; 78: 491 – 7.
- 198.** Roberfroid MB, Delzenne N. Dietary fructans. *Annu Rev Nutr* 1998; 18: 117 – 43.
- 199.** Roberfroid MB, Van Loo JAE, Gibson GR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998; 128: 11 – 9.
- 200.** Hosono A, Kitazawa H, Yamaguchi T. Antimutagenicity and antitumor activities of lactic acid bacteria. In Fuller R, ed. *Probiotics 2: applications and practical aspects*. London: Chapman & Hall, 1997: 89 – 132.
- 201.** Taylor GRJ, Williams CM. Effect of probiotics and prebiotics on blood lipids. *Br J Nutr* 1998; 80(suppl): S225 – 30.

- 202.** Gibson GR, Saavedra JM, MacFarlane S, MacFarlane GT. Probiotics and intestinal flora. In: Fuller R, ed. Probiotics: applications and practical aspects. London: Chapman & Hall, 1997: 10 – 39.
- 203.** Gorthier G. Antibiotic-associated diarrhoea and pseudomembranous colitis. In: Fuller R, ed. Probiotics: applications and practical aspects. London: Chapman & Hall, 1997: 40 – 64.
- 204.** Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, et al. A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics* 1991; 88: 90 – 7.
- 205.** Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, et al. Feeding bifidobacterium bifidum and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994; 344: 1046 – 9.
- 206.** Reddy BS. Prevention of colon cancer by pre- and probiotics: evidence from laboratory studies. *Br J Nutr* 1998; 80(suppl): S219 – 23.
- 207.** Gibson GR, Beatty EB, Wang X, Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 1995; 108: 975 – 82.
- 208.** Cummings JH. The large intestine in nutrition and disease. Danone Chair Monograph 1997. Brussels: Institute Danone, 1997.
- 209.** Reddy DS, Hamid R, Rao CV. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1371 – 4.
- 210.** Rowland IR, Rummey CJ, Coutts JT, Lievense LC. Effects of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced crypt foci in rats. *Carcinogenesis* 1997; 19: 281 – 5.
- 211.** Reddy BS. Possible mechanisms by which pro- and prebiotics influence colon carcinogenesis and tumor growth. *J Nutr* 1999; 129(suppl): S1478 – 82.

212. Nutrition Committee of the Canadian Pediatric Society. Breast-feeding. *Pediatr* 1978; 62: 291 – 601.
213. American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition. Encouraging breast-feeding. *Pediatr* 1980; 65: 657 - 8.
214. Goldman A.S. Modulation of the gastrointestinal tract of infants by human milk. *Interfaces and Interactions. An Evolutionary Perspective. J Nutr* 2000; 130: 426S – 31S.
215. American Academy Of Pediatrics, Committee on Nutrition. Nutrition and lactation. *Pediatr* 1981; 68: 435 – 43.
216. Atkison SA, Bryan MH, Anderson GH. Human milk: Difference in nitrogen concentrations in milk from mothers of term and premature infants. *J Pediatr* 1978; 93: 67 – 69.
217. Butte NF, Carza C, Johnson CA, Smith EO, Nichols BL. Longitudinal changes in milk composition of mothers delivering preterm and term infants. *Early Hum Dev* 1984; 9: 153 – 62.
218. Schalner RJ, Oh W. Composition of breast milk obtained from mothers of premature infants as compared to breast milk obtained from donors. *J Pediatr* 1980; 96: 679 – 81.
219. Gross SJ, David RJ, Baumann L, Tomarelli RM. Nutritional composition of milk produced by mothers delivering preterm. *J Pediatr* 1980; 96: 641 – 4.
220. Carlson SE. Human milk non-protein nitrogen: occurrence and possible functions. In: Barness LA, ed. *Advances In Pediatr*. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc; 1985: 43 – 70.
221. Hambraeus L. Proprietary milk versus human breast milk in infant feeding, a critical appraisal from the nutritional point of view. *Pediatr Clin Am* 1977; 24: 17 – 35.
222. Heine W, Tiess M, Wutzke KD. N tracer investigations of the physiological availability of urea nitrogen in mother's milk. *Acta Pediatr Scand* 1986; 75: 439 – 43.
223. Fomon SJ, Bier DM, Matthews DE, et al. Bioavailability of dietary urea nitrogen in the breast-fed infant. *J Pediatr* 1988; 113: 515 – 7.

- 224.** Billeaud C, Guillet J, Sandler B. Gastric emptying in infants with or without gastro-oesophageal reflux according to the type of milk. *Eur J Clin Nutr* 1990; 44: 577 – 83.
- 225.** Rassin DK, Gaull GE, Raiha NCR, Heinonen K. Milk protein quantity and quality in low-birth-weight infants. IV. Effects on tyrosine and phenylalanine in plasma and urine. *J Pediatr* 1977; 90: 356 – 60.
- 226.** Gaull CE, Rassin DK, Raiha NCR, Heinonen K. Milk protein quantity and quality in low-birth-weight infants. III. Effects on sulfur amino acids in plasma and urine. *J Pediatr* 1977; 90: 348 – 55.
- 227.** Jarvenpaa AL, Raiha NC, Rassin DK. Feeding the low-birth-weight infant: I. Taurine and cholesterol supplementation of formula does not affect growth and metabolism. *Pediatrics* 1983; 71: 171 – 8.
- 228.** Jarvenpaa AL, Rassin DK, Raiha NCR, Gaull GE. Milk protein quantity and quality in the term infant. II. Effects on acidic and neutral amino acids. *Pediatrics* 1982; 70: 2210–30.
- 229.** Goldman AS, Chheda S, Keeney SE, Scchmalstreig FC, Schanler RJ. Immunologic protection of the premature newborn by human milk. *Semin Perinatol* 1994; 18: 495 – 501.
- 230.** Lonnerdal B. Biochemistry and physiological function of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* 1985; 42: 1299 – 1317.
- 231.** Hanson LA, Ahlstedt S, Anderson B, et al. Protective factors in milk and the development of the immune system. *Pediatrics* 1985; 75(suppl): 172 – 176.
- 232.** Saavedra JM. Probiotics plus antibiotics: regulating our bacterial environment. *J Pediatr* 1999; 135(5): 535 – 7.
- 233.** Hernell O, Blackberg L. Human milk bile salt-stimulated lipase: functional and molecular aspects. *J Pediatr* 1994; 125: S56 – S61.
- 234.** Butte NF, Garza C, Smith EO. Variability of macronutrient concentrations in human milk. *Eur J Clin Nutr* 1988; 42: 345 – 9.
- 235.** Neville MC, Keller RP, Seacat J, Casey CE, Allen JC, Archer P. Studies on human lactation. I. Within-feed and between- breast

- variation in selected componenets of human milk. *Am J Clin Nutr* 1984; 40: 635 – 46.
- 236.** Nommsen LA, Lovelady CA, Heining MJ, Lonnerdal B, Dewey KG. Determinants of energy, protein, lipid and lactose concetrations in human milk dyring the first 12 months of lactation: the DARLING study. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 457 – 465.
 - 237.** Butte NF, Garza C, Stuff JE, Smith EO, Nichols BL. Effect of maternal diet and body composition on lactational performance. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 296 – 306.
 - 238.** Uauy R, Hoffman DR. Essential fatty acid requirements for normal eye and brain development. *Semin Perinatol* 1991; 15: 449 – 55.
 - 239.** Innis SM. Human milk and formula fatty acids. *J Pediatr* 1992; 120: S56 – S61.
 - 240.** Carlson SE, Werkman SH, Rhodes PG, Tolley EA. Visual-aquity development in healthy preterm infants: effect of marine-oil supplementation. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 35 – 42.
 - 241.** Whyte RK, Homer R, Pennock CA. Faecal excretion of oligosaccharides and other carbohydrates in normal neonates. *Arch Dis Child* 1978; 53: 913 – 5.
 - 242.** MacLean WC, Fink BB. Lactose malabsorption by premature infants: magnitude and clinical significance. *J Pediat* 1980; 97: 383 – 88.
 - 243.** Hanson LA, Adlerbeth I, Carlsson B, et al. Host defence of the neonate and the intestinal flora. *Acta Pediatr Scand (Suupl)* 1989; 351: 122 – 5.
 - 244.** Neville MC, Watters CD. Secretion of calcium into milk: a review. *J Dairy Sci* 1983; 66: 371 – 80.
 - 245.** Casey CE, Hambidge KM, Neville MC. Studies in human lactation: zinic, copper, magnese and chlorium in human milk in the first month of lactation. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 1193 – 1200.
 - 246.** Dallman PR, Siimes MA, Stekel A. Iron defeciency in infancy and childhood. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 86 – 118.

247. Saarinen UM. Need for iron supplementation in infants on prolonged breast-feeding. *J Pediatr* 1978; 93: 177 – 180.
248. Lucas A, Cole TJ. Breast milk and neonatal necrotizing enterocolitis. *Lancet* 1990; 336: 1519 – 1525.
249. Greco L, Auricchio S, Mayer M, Grimaldi M. Case control Study on nutritional risks in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 7: 395 – 399.
250. Norris JM, Scott FW. A meta-analysis of infant diet and insulin-dependent diabetes mellitus: do biases play a role? *Epidemiology* 1996; 7: 87 – 92.
251. Rigas A, Rigas B, Classman M, Yen YY, Lan SJ, Petridou E, Hsieh CC, Trichopoulos D. Breast feeding and maternal smoking in the etiology of Crohn's disease and ulcerative colitis in childhood. *Ann Epidemiol* 1993; 3: 387-392.
252. Mason T, Rabinovich CE, Fredrickson DD, Amoroso K, Reed A, Stein LD, Kredich DW. Breast feeding and the development of juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1995; 22: 1166 – 1170.
253. Davis M, Savitz DA, Grauford B. Infant feeding in childhood cancer. *Lancet*; 1988; 2: 365 – 368.
254. Goldman AS, Smith CW. Host resistance factors in human milk. *J Pediatr* 1973; 82: 1082 – 1090.
255. Yamada Y, Saito S, Morikawa H. Hepatocyte growth factor in human breast milk. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40: 112 – 120.
256. Gapano G, Bloch KJ, Carter EA, Dascoli JA, et al. Polyamines in human and rat milk influence intestinal cell growth in vitro. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27: 281 – 286.
257. Koldovski O, Goldman AS. Growth factors and cytokines in milk. In: *Mucosal Immunology*, 2nd ed (Orga PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienstock J, McGhee JR, eds), pp. 1523 – 1530. Academic Press, San Diego, CA.
258. Kimata H, Fujimoto M. Vasoactive intestinal peptide specifically induces human IgA1 and IgA2 production. *Eur J Immunol* 1994; 158: 2334 – 2339.

- 259.** Stanisz AM, Befus D, Bienestock J. Differential effects of vasoactive intestinal peptide substance P and somatostatin on immunoglobulin synthesis and proliferation of lymphocytes from Peyer's patches, mesenteric lymph nodes and spleen. *J Immunol* 1986; 136: 152 – 156.
- 260.** Goldman AS, Goldblum RM, Schmalstieg FC. Protective properties of human milk. Perinatal nutrition. Part III. In: *Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications*, 2nd ed. (Walker WA et al.), pp. 449 – 457. B.C. Decker, Hamilton, ON, Canada.
- 261.** Carver JD, Walker WA. The role of nucleotides in human nutrition. *Nutr Biochem* 1995; 6: 58 – 72.
- 262.** Uauy R, Quan R, Gil A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. *J Nutr* 1994; 124: S1436 – S1441
- 263.** Popkin BM, Adair L, Akin JS, Black R, Briscoe J, Flieger W. Breast-feeding and diarrheal morbidity. *Pediatrics* 1990; 86: 874 – 82.
- 264.** Glass RI, Stoll BJ. The protective effect of human milk against diarrhea. *Acta Pediatr Scand* 1989; 351: 131 – 136.
- 265.** Cunningham AS. Morbidity in breast-fed and artificially fed infants. *J Pediatr* 1977; 90: 726 – 729.
- 266.** Cunningham AS. Morbidity in breast-fed and artificially fed infants II. *J Pediatr* 1979; 95: 685 – 689.
- 267.** Cunningham AS, Jelliffe DB, Jelliffe EFP. Breast-feeding and health in the 1980's: a global epidemiologic review. *J Pediatr* 1991; 118: 659 – 666.
- 268.** Dewey KG, Heining MJ, Nommsen-Rivers LA. Differences in morbidity between breast-fed and formula-fed infants. *J Pediatr* 1995; 126: 696 – 702.
- 269.** Kovar MG, Serdula MD, Marks JS, Fraser DW. Review of the epidemiologic evidence for an association between infant feeding and infant health. *Pediatrics* 1984; 74: S615 – S638.

- 270.** Howie PW, Forsyth JS, Ogston SA, Clark A, Florey SV. Protective effect of breast feeding against infection. *Br Med J* 1990; 300: 11 – 16.
- 271.** Frank AL, Taber LH, Glezen WP, Kasel GL, Wells CR, Paredes A. Breast-feeding and respiratory virus infection. *Pediatrics* 1982; 70: 239 – 45.
- 272.** Wright AL, Holberg CJ, Martinez FD, Morgan WJ, Taussig LM, Group Health Medical Associates. Breast feeding and lower respiratory tract illness in the first year of life. *Br Med J* 1989; 299: 945 – 8.
- 273.** Pisacane A, Graziano L, Mazzarella G, Scarpellino B, Zona G. Breast feeding and urinary tract infection. *J Pediatr* 1992; 120: 87 – 89.
- 274.** Coppa GV, Gabrielli o, Giorgi P, et al. Preliminary study of breast-feeding and bacterial adhesion to uroepithelial cells. *Lancet* 1990; 335: 569 – 571.
- 275.** Lucas A, Cole TG. Breast milk and neonatal necrotizing enterocolitis. *Lancet* 1990; 336: 1519 – 1523.
- 276.** Narayanan I, Prakash K, Bala S, Verma RK, Gujral VV. Partial supplementation with expressed breast-milk for prevention of infection in low- birth weight infants. *Lancet* 1980; 11: 561 – 563.
- 277.** Narayanan I, Prakash K, Gujral VV. The value of human milk in the prevention of infection in the high-risk low-birth weight infant. *J Pediatr* 1981; 99: 496 – 498.
- 278.** Davis MK, Savitz DA, Graubard BI. Infant feeding and childhood cancer. *Lancet* 1988; 1: 365 – 368.
- 279.** Koletzko S, Sherman P, Corey M, Griffiths A, Smith C. Role of infant feeding practices in development of Crohn's disease in childhood. *Br Med J* 1989; 298: 1617 – 1618.
- 280.** Gerstein HC. Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1994; 17: 13 – 19.
- 281.** Kramer MS. Does breast feeding help protect against atopic disease? Biology, methodology and golden jubilee of controversy. *J Pediatr* 1988; 112: 181 – 190.

- 282.** Saarinen UM, Backman A, Kajosaari M, Siimes MA. Prolonged breast feeding as a prophylaxis for atopic disease. *Lancet* 1979; 11: 163 – 166.
- 283.** Growth Curves For Children, Birth- 18 Years. Washington, DC; Natinal Center For Health Statistics. US. Department of Health, Education and Welfare: 1977. DHEW Publication No. PHS 78 – 1650.
- 284.** Ahn CH, MacLean WC. Growth of the exclusively breast-fed infant. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 183 – 192.
- 285.** Dewey KG, Heining MJ, Nommsen LA, Peerson JM, Lonnerdal B. Growth of breast-fed and formula-fed infants from 0 to 18 months; the DARLIN study. *Pediatrics* 1992; 89: 1035 – 1041.
- 286.** Nelson SE, Rogers RR, Ziegler EE, Formon SJ. Gain in weight and length during early infancy. *Early Mum Dev* 1989; 19: 223 – 239.
- 287.** Salmenpera L, Perheentupa J, Siimes Ma. Exclusively breast fed healthy infants grow slower than reference infants. *Pediatr Res* 1985; 19: 307 – 312.
- 288.** Whitehead RG, Paul AA, Cole TJ. Diet and the growth of healthy infants. *J Hum Nutr Diet* 1989; 2: 73 – 84.
- 289.** An Evaluation of Infant Growth. Geneva; Working Group on Infant Growth. World Health Organisation: 1994. Nutrition Unit WHO.
- 290.** Michaelssen KF, Larsen PS, Thomson BL, Samuelson G. Weight, length, head circumference and growth velocity in a longitudinal study of Danish Infants. *Dan Med Bull* 1994; 41: 577 - 85.
- 291.** Krebs NF, Reidinger CJ, Robertson AD, Hambidge KM. Growth and intakes of energy and zinic in infants fed human milk. *Pediatrics* 1994; 124: 32 – 39.
- 292.** Pearson LA. Infant feeding and growth – a longitudinal study in three Sweedish communities. *Ann Hum Biol* 1985; 12: 411 – 452.
- 293.** Yeung DL. Infant nutrition. Ottawa; Canadian Public Health Association: 1983.

294. Heining MJ, Nommsen LA, Peerson JM, Lonnerdal B, Dewey KG. Intake and growth of breast-fed and formula-fed infants in relation to the timing of introduction of complementary foods: the DARLING study. *Acta Paediatr* 1993; 82: 999 – 1006.
295. Dewey KG, heinig MJ, Nommsen LA, Lonnerdal B. Materna vs infant factors related to breast milk intake and residual milk volume: the DARLING study. *Pediatrics* 1991; 87: 829 – 37.
296. Menzies IS. Transmucosal passage of inert molecules in health and disease. In: Skadhauge E, Heintze K, eds. *Intestinal absorption and secretion. Falk Symposium 36.* Lancaster, UK:MTP Press, 1984: 527 – 43.
297. Travis S, Menzies I. Intestinal permeability: functional assessment and significance. *Clin Sci* 1992; 82: 471 – 88.
298. Hodges S, Ashmore SP, Patel HR, Tanner MS. Cellobiose:mannitol differential permeability in small bowel disease. *Arch Dis Child* 1989; 64: 853 – 854.
299. Van Elburg RM, Uil JJ, Monchy JGR, Heymans HAS. Intestinal permeability in pediatric gastroenterology. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27 (Suppl 194): 19 – 24.
300. Cobden I, Rothwell J, Axson ATR. Intestinal permeability and screening tests for coeliac disease. *Gut* 1980; 21: 512 - 518.
301. Pearson ADJ, Eastham EJ, Laker MF, Craft AW, Nelson R. Intestinal permeability in children with Crohn's disease and coeliac disease. *Br Med J* 1982; 285: 20 – 1.
302. Stenhammer L, Stromberg S. Intestinal permeability to lactulose / L-rhamnose in children with coeliac disease and other gastrointestinal disorders [Letter]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7: 304 – 6.
303. Greco L, D'Adamo G, Truscelli A, Parrilli G, Mayer M, Budillon G. Intestinal permeability after single dose gluten challenge on coeliac disease. *Arch Dis Child* 1991; 66: 870 – 2.
304. Menzies IS, Pounder R, Heyes S, Laker MF, Bull J, Wheeler PG, Creamer B. Abnormal intestinal permeability to sugars in villous atrophy. *Lancet* 1979; ii: 107 – 9.

305. Cobden I, Dickinson R, Rothwell J, Axon A. Intestinal permeability assessed by excretion ratios of two molecules: results coeliac disease. *Br Med J* 1978; ii: 1060 – 2.
306. Sanderson IR, Boulton P, Menzies I, Walker-Smith JA. Improvement of abnormal lactulose / rhamnose permeability in active Crohn's disease of the small bowel by an elemental diet. *Gut* 1987; 28: 1073 - 6.
307. Murphy MS, Eastham EJ, Nelson R, Pearson ADJ, Laker MF. Intestinal permeability in Crohn's disease. *Arch Dis Child* 1989; 64: 321 – 5.
308. Hollander D. The intestinal permeability barrier. A hypothesis as to its regulation and involvement in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 721 - 6.
309. Du Mont GCL, Beach RC, Menzies IS. Gastrointestinal permeability in food-allergic atopic children. *Clin Allergy* 1984; 14: 55 – 9.
310. Jackson PG, Lessof MH, Baker RWR, Ferret J, MacDonald DM. Intestinal permeability in patients with eczema and food allergy. *Lancet* 1981; ii: 1285 – 6.
311. Dupont C, Barau E, Molkehou P, Raynaud F, Barbet JP, Dehenin L. Food-induced alterations of intestinal permeability in children with cow's milk sensitive enteropathy and atopic dermatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 8: 459 – 65.
312. Jalonen T. Identical intestinal permeability change in children with different clinical manifestations of cow's milk allergy. *J Allerg Clin Immunol* 1991; 88: 737 – 42.
313. Penny DJ, Ingall CB, Boulton P, Walker-Smith JA, Basheer SM. Intestinal malabsorption in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1986; 61: 1127 – 8.
314. Leclercq-Foucart, Forget PP, Van Cutsem JL. Lactulose-rhamnose intestinal permeability in children with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 66 – 70.
315. Murphy MS, Sheldon W, Brunetto A, Pearson AD, Laker MF,

Eastham EJ, Nelson R. Active and passive sugar absorption in pancreatic insufficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1985; 4: 568 – 74.

- 316.** Lunn PG, Nortrop-Clewes CA, Downes RM. Intestinal permeability, mucosal injury and growth faltering in Gambian infants. *Lancet* 1991; 338: 907 – 10.
- 317.** Fleming SC, Kynaston JA, Laker MF, Paerson ADJ, Kapembwa MS, Griffin GE. Analysis of multiple sugar probes in urine and plasma by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed electrochemical detection. Application in the assessment of intestinal permeability in human immunodeficiency virus infection. *J Chromatogr* 1993; 640: 293 – 7.
- 318.** Pignata C, Budillon G, Monaco G, Nari E, Cuomo R, Parrilli G, Ciccimarra F. Jejunal bacterial overgrowth and intestinal permeability in children with immunodeficiency syndromes. *Gut* 1990; 31: 879 – 82.
- 319.** Cobden I, Hamilton I, Rothwell J, Axon AT. Cellobiose/mannitol tests. Physiological properties of probe molecules and influence of extraneous factors. *Clin Chem Acta* 1985; 148: 53 – 62.
- 320.** Anonymous. Intestinal permeability. *Lancet* 1985; 1: 256 – 8.
- 321.** Ufachtz C. Intestinal permeability. *J pediatr Gastroenterol Nutr* 1985; 4: 520 – 22.
- 322.** Nasrullah SM, Iber FC. Mannitol absorption and metabolism in man. *Am J Med Sci* 1969; 258: 80 – 8.
- 323.** Laker MF, Bull HJ, Menzies IS. Evaluation of mannitol for use as a probe marker of gastrointestinal permeability in man. *Eur J Clin Invest* 1982; 12: 485 – 91.
- 324.** Cobden I, Rothwell J, Axon ATR. Non-invasive test for small intestinal mucosal damage. *Lancet* 1979; ii: 379
- 325.** Cobden I, Rothwell J, Axon ATR. Intestinal permeability and screening tests for coeliac disease. *Gut* 1980; 21: 512 – 8.
- 326.** Ford RPK, Menzies IS, Phillips AD, Walker-Smith JA, Turner N.

Intestinal sugar permeability: relationship to diarrhoeal disease and small bowel morphology. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1985; 4: 568 – 74.

327. Leelercq-Foucart J, Forgott PP, Van Cutsem JL. Lactulose – rhamnose intestinal permeability in children with cystic fibrosis. *J pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 66 – 70.
328. Pearson ADJ, Eastham EJ, Laker MF, Craft AW, Nelson R. Intestinal permeability in Crohn's disease and coeliac disease. *Br Med J* 1982; 285: 20 – 1.
329. Menzies I. Absorption of oligosaccharides in health and disease. *Biochem Soc Trans* 1974; 2: 1042 – 6.
330. Laker MF, Menzies IS. Increase in human intestinal permeability following ingestion of hypertonic solutions. *J Physiol* 1977; 265: 881 - 94.
331. Menzies IS, Laker MF, Pounder R et al. Abnormal intestinal permeability to sugars in villous atrophy. *Lancet* 1979; ii: 1107 – 9.
332. Hamilton J, Hill J, Bose B, Bouchier AD, Forsyth JS. Small intestinal permeability in pediatric clinical practice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 697 – 701.
333. Behrens RH, Lunn PG, Northrop CA, Hanlon PW, Neale G. Factors affecting the integrity of the intestinal mucosa of Cambian Children. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 1433 – 41.
334. Northrop CA, Lunn PG, Behrens RH. Automated enzymatic assay for the determination of intestinal permeability probes in urine. 1. Lactulose and lactose. *Clin Chem Acta* 1990; 187: 79 – 88.
335. Lunn PG, Northrop CA, Northrup AJ. Automated enzymatic assays for the determination of intestinal permeability probes in urine. 2. Mannitol. *Clin Chem Acta* 1989; 183: 163 – 70.
336. Behrens RH, Docherty H, Elia M, Neale G. A simple enzymatic method for the assay urinary lactulose. *Clin Chem Acta* 1984; 32: 316 – 7.
337. Menzies IS, Mount JN, Wheeler MJ. Quantitative estimation of

clinically important monosacharides in plasma by rapid thin layer chromatography. *Ann Clin Biochem* 1978; 15: 65 – 76.

- 338. Catassi C, Pierani P, Natalini G, Gabrielli o, Coppa GV, Giorgi P. Clinical application of a simple HPLC method for the sugar Intestinal permeability test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 12: 209 – 212.
- 339. Williems D, Cadranel S , Jacobs W. Measurement of urinary sugars by HPLC in the estimation of intestinal permeability: evaluation in pediatric practice. *Clin Chem* 1993; 39: 888 – 90.
- 340. Mikki K, Butler R, Moore D, Davidson . Rapid and simultaneous quantification of rhamnosw, mannitol and lactulose in urine by HPLC for estimating intestinal permeability in pediatric practice. *Clin Chem* 1996; 42: 71 – 5.
- 341. Ν. Ανδρικόπουλος. Χημεία και Τεχνολογία Τροφίμων Τόμος ΙΙ, Εργαστηριακές Ασκήσεις. 1999
- 342. Uil JJ, van Elburg RM, Janssens PM, Mulder CJ, Heymans HS. Sensitivity of a hyperosmolar or “low” –osmolar test solution sugar absorption in recognising small intestinal mucosal damage in coeliac disease. *Dig Liver Dis.* 2000 Apr; 32 (3): 195 – 200.
- 343. Erika I. Probiotics in human disease. *Am Clin Nutr* 2001; 73(suppl):1142s – 6s.
- 344. Juby LD, Rothwell J, Axon AT. Lactulose / mannitol test: an ideal screen for celiac disease. *Gastroenterology.* 1989 Jan; 96 (1): 79 – 85.
- 345. Molin G. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v. *Am J Clin Nutr* 2001; 380s – 5s.
- 346. Zubillaga M, Weill R, Postaire E, Goldam C, Caro R, Boccio J. Effects of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nutr Research* 2001; 569 – 79.
- 347. Andres C. Cultures provide nutritional and therapeutic benefits. *Food Proc* 1987; 21.
- 348. Hughes DB, Hoover DG. 11Bifidobacetrria: Their 1potential for

- use in American Dairy Products. Food Technology 1991; 74 – 83.
- 349.** Rolfe DR. The role of probiotic cultures in the control of gastro – intestinal health. J Nutr 2000; 396s – 402s.
 - 350.** Roberford BM. Preferential substrates for specific germs? Am J Clin Nutr 2001; 73(suppl): 406s – 9s.
 - 352.** Andre C, Andre F, Colin L, Cavagna S. Measurement of intestinal permeability to mannitol and lactulose as means of diagnosing food allergy and evaluating therapeutical effectiveness of disodium cromoglycate. Ann Allergy. 1987 Nov; 59 (5 Pt 2): 127 – 30.
 - 353.** Duopont C, Barau E, Dehennin L, Molklou P. Measurement of intestinal permeability to sugars : application in the diagnosis of celiac disease and cow's milk protein enteropathy. Pathol Biol (Paris). 1987 Oct; 35 (8): 1179 – 82.
 - 354.** Leke L, Barau E, Barbet JP, Epelbaum S et al. Value of the intestinal permeability test with lactulose – mannitol screening and monitoring of celiac disease in children. Arch Fr Pediatr. 1992 Jan; 49 (1): 33 – 7.
 - 355.** Andre F, Andre C, Emery Y, Forichon J, et.al. Assessment of the lactulose – mannitol test in Crohn's disease. Gut. 1988 Apr;29 (4): 511 – 5.
 - 356.** Johnston SD, Smye M, Watson RG, Mcmillian SA, Trimble ER. Ann Clin Biochem. 2000 Jul; 37 (Pt4): 512 – 9.
 - 357.** Zhang Y, Lee B, Thomson M, Glass R et.al. Lactulose – mannitol intestinal permeability test in children with diarrhea caused by rotavirus and cryptosporidium. Diarrhea Working Group, Peru. J. Pediatr Gastroenterol Nutr. 2000 Nov; 31 (5): 578.
 - 358.** Ford RP, Menzies IS, Phillips AD, Walker-Smith JA, Turner MW. Intestinal sugar permeability: relationship to diarrhoeal diseases and small bowel morphology. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1985 Aug; 4 (4): 568 – 74.
 - 359.** Van Elburg RM, Kokke FT, Uil JJ, Mulder CJ et al. Measurement

of selective intestinal permeability using a new sugar absorption test. Ned Tijdschr Geneeskd. 1993 Oct 9; 137 (41): 2091 – 5.